

Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie
Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Peter Falkei

**Variabilität der motor-kortikalen Effekte von
anodaler und kathodaler Gleichstromstimulation
bei gesunden Probanden**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Alexandra Nikolaeva
aus Tchernovcy, Ukraine
2019

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	PD Dr. med. Alkomiet Hasan
Mitberichterstatter:	PD Dr. med. Johann Szecsi
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	Dr. med. Wolfgang Strube
Dekan:	Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel
Tag der mündlichen Prüfung:	28.02.2019

Eidesstattliche Versicherung

Nikolaeva, Alexandra

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema:

Variabilität der motor-kortikalen Effekte von anodaler und kathodaler Gleichstromstimulation bei gesunden Probanden

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 05.03.2019

Alexandra Nikolaeva

Ort, Datum

Unterschrift Doktorand

*Посвящаю с любовью и благодарностью моим родителям-
учителям по жизни и в науке, которые сделали все
возможное и невозможное для исполнения моей мечты.*

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG	7
1.1 Nicht-invasive Stimulation zur Induktion kortikaler Plastizität	8
1.1.1 Transkranielle Gleichstromstimulation	8
1.1.2 Weitere Verfahren der Neuromodulation	10
1.2 Transkranielle Gleichstromstimulation zur Induktion von Plastizität	11
1.2.1 Mechanismus der transkraniellen Gleichstromstimulation.....	11
1.2.2 Transkranielle Gleichstromstimulation und Motorkortex.....	12
1.2.3 Entwicklung der transkraniellen Gleichstromstimulation.....	14
1.2.4 Pharmakologie der transkraniellen Gleichstromstimulation.....	18
1.3 Transkranielle Stimulation zur Evaluation kortikaler Erregung	20
1.3.1 Methodik der transkraniellen Magnetstimulation	20
1.3.2 Einzelpulsmessungen.....	22
1.4 Interindividuelle Variabilität im Antwortverhalten.....	24
1.4.1 Intrinsische Faktoren	25
1.4.2 Extrinsische Faktoren	26
2. ZIELSETZUNG DER STUDIE.....	27
3. MATERIALIEN UND METHODEN	29
3.1 Studienteilnehmer	29
3.1.1 Einschlusskriterien.....	29
3.1.2 Ausschlusskriterien.....	29
3.2 Versuchsaufbau und Versuchsdurchführung	31
3.2.1 Zeitpunkt der Versuche.....	31
3.2.2 Vorbereitung.....	31
3.2.3 Oberflächenelektromyographie.....	32
3.2.4 Transkranielle Magnetstimulation	33
3.2.5 Optimaler Stimulationspunkt.....	33
3.2.6 Messparameter und Versuchsdurchführung	33
3.2.7 TMS-Einzelpulsmessungen	34
3.2.8 Transkranielle Gleichstromstimulation	34
3.2.9 Zusammenfassung der Versuchsprotokolle	36
3.3 Statistik und Auswertung	37
4. ERGEBNISSE.....	40
4.1 Gesamteffekte der tDCS	41
4.2 Clusteranalyse.....	43

4.3	I/O-Kurven nach dem Clustering.....	46
4.4	Responder Analyse	49
4.5	Korrelationsanalysen	51
5.	DISKUSSION.....	52
5.1	Ergebnisdiskussion	53
5.1.1	Anodale transkranielle Gleichstromstimulation	54
5.1.2	Kathodale transkranielle Gleichstromstimulation.....	55
5.1.3	Responder und Non-Responder	55
5.1.4	Cluster-Gruppen.....	56
5.1.5	Variabilität im Antwortverhalten	59
5.2	Methodendiskussion.....	60
5.2.1	Stimulationsparameter	60
5.2.2	Intensität und Dauer	60
6.	ZUSAMMENFASSUNG	62
7.	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	64
8.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	66
9.	TABELLENVERZEICHNIS	67
10.	DANKSAGUNG	68
11.	PUBLIKATIONEN	69
12.	LITERATURVERZEICHNIS	70

1. Einleitung

Das menschliche Gehirn und dessen Fähigkeiten waren und sind ein sehr wichtiges Themengebiet der psychiatrischen Forschung. Dabei spielt die Untersuchung der neuronalen Plastizität in gesunden Probanden und betroffenen Personen eine wichtige Rolle.

Die neuronale Plastizität des Gehirns bezeichnet dabei die Fähigkeit, sich durch neuronale Veränderungen an externe Stimuli und Umweltbedingungen anzupassen (Pascual-Leone, Amedi, Fregni, & Merabet, 2005; Ridding & Ziemann, 2010). Diese Veränderungen sind erfahrungsabhängig und stellen einen komplexen Vorgang dar. Die Reorganisation der neuronalen Strukturen findet sowohl auf zellulärer als auch auf molekularer Ebene statt (Pelletier & Cicchetti, 2015; Yuste & Bonhoeffer, 2001). Diese Fähigkeit dient der Anpassung an die Umwelt und ist für den Vorgang des Lernens entscheidend. In den letzten Jahrzehnten wurden verschiedene Methoden entwickelt, die diese neuronale Plastizität in physiologischen Experimenten in Probanden modulieren können. Unter anderem hat hier die nicht-invasive Hirnstimulation (non-invasive brain stimulation, NIBS) eine besondere Bedeutung (Huang et al., 2017). Unter dem Begriff werden verschiedene Techniken der Neurostimulation zusammengefasst (Huang et al., 2017; Ziemann et al., 2008). Zu den NIBS gehören unter anderem die (repetitive) transkranielle Magnetstimulation ((r)TMS), die transkranielle Gleichstromstimulation (tDCS), die Induktion von erfahrungsabhängiger motor-kortikaler Plastizität (use-dependent plasticity UDP) und die gepaarte assoziative Stimulation (paired-associative stimulation, PAS). Durch die Anwendung dieser Verfahren kann sowohl eine Messung der kortikalen Erregbarkeit mittels TMS als auch die Induktion der kortikalen Plastizität via unter anderem der rTMS, tDCS und PAS erzielt werden.

In meiner Arbeit habe ich die motor-kortikale Plastizität unter Verwendung der anodalen und kathodalen tDCS moduliert und die kortikale Erregbarkeit vor und nach der NIBS mit Hilfe der TMS über dem Motorkortex erfasst. Jedoch ist die Variabilität der Effekte der NIBS aktuell eine große Herausforderung für die heutige Forschung, da anscheinend eine Vielzahl von Faktoren die Wirkungen der NIBS zu beeinflussen scheint (Huang et al., 2017).

So konnte in vielen Studien zuvor, eine hohe Variabilität in dem neurophysiologischen Antwortverhalten bei gesunden Probanden auf die NIBS beobachtet werden (Huang et al., 2017; Ridding & Ziemann, 2010; Strube, Bunse, Malchow, & Hasan, 2015; Wassermann, 2002; Wiethoff, Hamada, & Rothwell, 2014). Das bedeutet, dass die Reaktion der Probanden auf die gleiche Stimulation unterschiedlich ausfällt. Beispielsweise reagieren einige Probanden auf ein erregbarkeitssteigerndes Verfahren mit einer Inhibition. Die Gründe für diese Variabilität scheinen, multifaktoriell zu sein und sind zum Teil noch unbekannt. Die Berücksichtigung dieser Faktoren kann jedoch helfen, die interindividuelle Antwort auf eine Gehirnstimulation besser vorhersagen zu können (Ridding & Ziemann, 2010). Dies macht das Wissen über diese Faktoren besonders wichtig. Ridding und Ziemann fassten bereits 2010 in ihrer Arbeit eine Vielzahl von Faktoren, die einen Einfluss auf die interindividuelle Variabilität im Antwortverhalten zu haben scheinen, zusammen. Dazu gehörten unter anderem das Geschlecht, das Alter, körperliche Aktivität während der Messung, pharmakologische Einflüsse, Genetik und Zeitpunkt der Messungen (Ridding & Ziemann, 2010) der Probanden.

1.1 Nicht-invasive Stimulation zur Induktion kortikaler Plastizität

Durch die Anwendung der NIBS kann die kortikale Plastizität nicht nur während der Stimulation selbst, sondern auch über die Dauer der Anwendung hinaus beeinflusst werden. Das bietet die Möglichkeit, die kortikale Plastizität und somit auch die neuronale Reorganisation zu verändern (Dayan, Censor, Buch, Sandrini, & Cohen, 2013; Huang et al., 2017; Ziemann et al., 2008). Einige dieser Verfahren werde ich im Folgenden genauer erläutert.

1.1.1 Transkranielle Gleichstromstimulation

Die tDCS ist ein nicht invasives, neuromodulatorisches Verfahren, welches zur Modulation der kortikalen Erregbarkeit eingesetzt wird (Dieckhofer et al., 2006; Fregni et al., 2005; Nitsche et al., 2007; Nitsche & Paulus, 2000; Wagner, Valero-Cabre, & Pascual-Leone, 2007). Sie war eine der ersten Methoden zur Neuromodulation, die bereits in den 1960er Jahren an freigelegten Hirnarealen

unterschiedlicher Tiere (vor allem Katzen, Ratten und Mäuse) Anwendung fand (Bindman, Lippold, & Redfearn, 1964; Purpura & McMurtry, 1965). Die tDCS ist die einzige aktuelle zur Induktion von Plastizität verwendete Methode beim Menschen, die ein direktes elektrisches Feld verwendet (Pelletier & Cicchetti, 2015). Dabei werden mittels eines Gleichstroms, der über einige Minuten über der Kopfhaut appliziert wird, eine Verschiebung des neuronalen Ruhemembranpotentials, und damit eine Veränderung der kortikalen Erregbarkeit, erzeugt. Dabei führt unter Standardbedingungen in der Regel die anodale tDCS zur Depolarisation und die kathodale tDCS zur Hyperpolarisation der stimulierten Neuronenverbände (Creutzfeldt, Fromm, & Kapp, 1962; Monte-Silva, Kuo, Liebetanz, Paulus, & Nitsche, 2010; Nitsche et al., 2008; Nitsche & Paulus, 2000, 2001; Purpura & McMurtry, 1965). Diese Veränderungen der regionalen kortikalen Exzitabilität sind von der Polarität und der Dauer der Stimulation abhängig und können für Minuten bis Stunden nach der Beendigung der Stimulation anhalten (Nitsche et al., 2008; Nitsche & Paulus, 2000). Somit bietet dieses Verfahren eine Möglichkeit, die kortikale Exzitabilität durch die Modulation der neuronalen Membranpolarität und damit auch des Schwellenwertes für ein Aktionspotential über die Dauer der Stimulation hinaus zu beeinflussen (Liebetanz, Nitsche, Tergau, & Paulus, 2002; Nitsche et al., 2008; Nitsche & Paulus, 2001; Pelletier & Cicchetti, 2015). Im Jahr 2000 gelang es Nitsche und seinen Kollegen, am menschlichen Motorkortex aufzuzeigen, dass die Anwendung der anodalen tDCS zu einer Zunahme und die Anwendung der kathodalen tDCS zu einer Abnahme der kortikalen Erregbarkeit (gemessen anhand der MEP-Amplituden) führt (Nitsche & Paulus, 2000). In dieser Studienreihe wurden auch die noch heute gebräuchlichen Stimulationsprotokolle definiert. Die, durch die Anwendung der tDCS in verschiedenen Hirnarealen erzeugten, Veränderungen finden auf zellulärer und molekularer Ebene statt und verwenden Mechanismen, die den molekularen Vorgehensweisen der Langzeitpotenzierung (long term potential, LTP) - oder der Langzeitdepression (long term depression, LTD) - ähnlich sind, was in unterschiedlichen Tierstudien später gezeigt werden konnte (Leffa et al., 2018; Pelletier & Cicchetti, 2015; Voroslakos et al., 2018; Wu et al., 2017; Ziemann et al., 2008). Auf die historische Entwicklung, die Anwendung, den Mechanismus, die Pharmakologie und die Sicherheitsaspekte der tDCS werde ich im weiteren Verlauf meiner Arbeit näher

eingehen. Es folgt eine kurze Beschreibung anderer Verfahren der NIBS, die in meiner Arbeit zwar keine Anwendung gefunden haben, aber die für das Verständnis der Diskussion der interindividuellen Variabilität in dem Antwortverhalten auf die NIBS eine wichtige Rolle spielen.

1.1.2 Weitere Verfahren der Neuromodulation

Die repetitive transkranielle Magnetstimulation

Die rTMS stellt eine Sonderform der transkraniellen Magnetstimulation dar und ermöglicht die Applikation von Reizserien oder Salven. Das bedeutet, dass zusätzlich zu den allgemeinen Parametern einer einfachen TMS, Variablen wie Seriadauer, Abstand zwischen den einzelnen Serien und die Anzahl der Serien hinzukommen (Chao et al., 2015; Huang et al., 2017; Muller-Dahlhaus, Orekhov, Liu, & Ziemann, 2008; Wassermann, 1998). Dabei verursacht die rTMS andere neuronale Effekte als die TMS mit Einzelstimuli (Corti, Patten, & Triggs, 2012). Eine niederfrequente rTMS kann unter anderem inhibierend und eine hochfrequente rTMS verstärkend auf die kortikale Erregbarkeit wirken (Huang et al., 2017; Lanza et al., 2018; Touge, Gerschlag, Brown, & Rothwell, 2001; Ziemann et al., 2008). Auch die rTMS kann die kortikale Erregbarkeit in Abhängigkeit von der Frequenz lang anhaltend verändern (Chen et al., 1997; Lanza et al., 2018; Nitsche & Paulus, 2001; Pascual-Leone, Valls-Sole, Wassermann, & Hallett, 1994; Touge et al., 2001). Im Unterschied zur tDCS, löst die rTMS jedoch unter Anwendung von Standardparametern über eine Interneuron-Aktivierung Aktionspotentiale in den Pyramidenzellen aus (Guerra, Lopez-Alonso, Cheeran, & Suppa, 2017; Nitsche et al., 2008).

Theta-Burst Stimulation

Die Theta-Burst Stimulation (TBS) ist ein Protokoll der rTMS mit kurzen hochfrequenten Reizserien, die zu einer konsistenten und lang anhaltenden Verschiebung der kortikalen Erregbarkeit im Motorkortex führen (Guerra et al., 2017; Huang, Edwards, Rounis, Bhatia, & Rothwell, 2005; Ziemann et al., 2008). Die intermittierende TBS (eng.: intermittent TBS, iTBS) und die fortlaufende TBS (eng.: continuous TBS, cTBS) führen zu einer N-Methyl-D-Aspartat-(NMDA)-Rezeptor vermittelten LTP- oder LTD-ähnlichen kortikalen Plastizitätsänderung (Ziemann et al., 2008). Die Vorteile der TBS im Vergleich zur klassischen rTMS

sind die kurze Stimulationsdauer und die geringere Stimulationsintensität (Guerra et al., 2017; Ziemann et al., 2008).

Paired-associative stimulation

Die paired-associative stimulation (PAS, deutsch: gepaarte assoziative Stimulation) kombiniert die periphere Stimulation eines Nervens mit einem zentralen TMS-Reiz des primären motorischen Kortex (Kohl et al., 2018; Stefan, Kunesch, Cohen, Benecke, & Classen, 2000; Ziemann et al., 2008). Dadurch kann diese Methode ebenfalls eine langanhaltende NMDA-Rezeptor vermittelte LTP- oder LTD-ähnliche Plastizität des motorischen Kortex induzieren (Guerra et al., 2017; Ridding & Ziemann, 2010; Ziemann et al., 2008), die bis zu 2 Stunden nach der Stimulation anhalten kann (Ridding & Ziemann, 2010; Stefan et al., 2000; Strube et al., 2015; Ziemann, Ilic, Pauli, Meintzschel, & Ruge, 2004). Die PAS-Protokolle zur Induktion von LTD- und LTP-ähnlicher Plastizität sind bis auf die Interstimulusintervalle (10 Millisekunden vs. 25 Millisekunden) identisch (Ziemann et al., 2008).

Nach dieser kurzen Einführung in die unterschiedlichen Methoden der NIBS fokussiere ich mich im Folgenden auf die tDCS, da ich diese Stimulationsform für meine Untersuchungen ausgewählt habe.

1.2 Transkranielle Gleichstromstimulation zur Induktion von Plastizität

1.2.1 Mechanismus der transkraniellen Gleichstromstimulation

Bei der tDCS wird über zwei am Kopf angelegte Schwammelektroden ein schwacher, kontinuierlicher Strom appliziert, der zu einer nachhaltigen Veränderung der neuronalen Erregbarkeit des Kortex führt (Nitsche et al., 2008; Nitsche & Paulus, 2011; Nitsche et al., 2005; Paulus, 2003). Dabei dient eine der angelegten Elektroden als Anode, die andere als Kathode. Eine Elektrode, je nachdem, ob mit positiver oder negativer Polarität stimuliert werden soll, wird über der gewünschten Hirnregion angebracht, die andere Elektrode dient an der kontralateralen Stirnseite als Referenzelektrode. Technisch fließt dabei der

Strom von der Anode zur Kathode und physikalisch entgegengesetzt. Die Referenzelektrode ist daher auch stets biologisch aktiv.

So ist zum Beispiel bei der Verwendung von Schwammelektroden einer Größe von 25 cm² und einer Stromstärke von 1 mA, von einer kortikalen Stromdichte von 0,1 mA/mm² auszugehen (Miranda, Lomarev, & Hallett, 2006). Das entspricht 10 % des induzierten Stroms, wobei die anderen 90 % von der umliegenden Haut, den Knochen und der zerebrospinalen Flüssigkeit resorbiert werden (Wagner et al., 2007).

Durch die tDCS können unterschiedliche Bereiche des Gehirns in ihrem Erregungsniveau beeinflusst werden. Am besten untersucht ist dabei die physiologische Wirkung der tDCS auf den Motorkortex (Falcone, Wada, Parasuraman, & Callan, 2018; Huang et al., 2017; Nitsche et al., 2003; Paulus, 2003; Ziemann et al., 2008).

1.2.2 Transkranielle Gleichstromstimulation und Motorkortex

Im Bereich des Motorkortex können durch die Anwendung der tDCS langanhaltende Veränderungen der kortikospinalen Exzitabilität erzeugt werden (Nitsche et al., 2008; Nitsche & Paulus, 2011; Nitsche et al., 2005). Der primäre Wirkungsmechanismus beruht dabei auf der Modulation der Reizschwelle von kortikalen Neuronen (Nitsche et al., 2008; Pogosyan, Gaynor, Eusebio, & Brown, 2009). Dabei wird angenommen, dass bei der anodalen tDCS prinzipiell eine Depolarisation des Membranpotentials und bei der kathodalen tDCS eine Hyperpolarisation stattfindet (Nitsche et al., 2008; Nitsche et al., 2007). Dabei spielen u.a. glutamaterge NMDA-Rezeptoren eine wesentliche Rolle. NMDA-Rezeptoren sind ionotrope Glutamaterezeptoren, die an der Entstehung der kortikalen Plastizität beteiligt zu sein scheinen (Dingledine, Borges, Bowie, & Traynelis, 1999). Im Ruhemembranpotential ist der Kalziumeinstrom durch externe Magnesium-Ionen (Mg²⁺) blockiert (Cooke & Bliss, 2006; Mayer, Westbrook, & Guthrie, 1984; Nowak, Bregestovski, Ascher, Herbet, & Prochiantz, 1984). Sobald jedoch die postsynaptische Membran ausreichend stark depolarisiert ist, geben die Magnesium-Ionen die Rezeptoren frei (die sogenannte Aufhebung des Magnesium-Blocks). Durch die Bindung von Glutamat öffnen sich die NMDA-Rezeptoren und werden durchlässig für Kalzium-Ionen (Morris, 2013). Der erhöhte Kalziumeinstrom und die damit verbundene

erhöhte intrazelluläre Kalziumkonzentration führen zur Aktivierung einer Signalkaskade, die neuroplastische Veränderungen, ähnlich der LTP oder der LTD, bewirken (Biology of the NMDA receptor; VanDongen, 2008, p. 283). Durch die Blockade der spannungsabhängigen Kalziumkanäle durch Flunarizin ließen sich die Nacheffekte der anodalen tDCS aufheben (Nitsche et al., 2003). Das spricht dafür, dass für die Induktion von Nacheffekten nach der Anwendung der tDCS sowohl NMDA-Rezeptoren als auch Kalziumkanäle eine wichtige Rolle spielen (Fresnoza, Stiksrud, et al., 2014).

Die pharmakologische Reaktion und somit die Nacheffekte, die durch die tDCS ausgelöst werden, hängen dabei nicht nur von der Art (anodal oder kathodal), sondern auch von der Dauer der Stimulation ab (Di Lazzaro & Rothwell, 2014; Nitsche et al., 2008; Nitsche et al., 2003; Nitsche & Paulus, 2001). Eine Stimulation des Motorkortex, die nur wenige Sekunden anhält, moduliert die kortikale Erregbarkeit nur für die Dauer der tDCS, bei einer mehrminütigen Dauer können hingegen Nacheffekte erzielt werden, die über eine Stunde nach der Stimulation anhalten können (Di Lazzaro & Rothwell, 2014; Nitsche & Paulus, 2000; Paulus, 2003). Um eine langanhaltende Veränderung der motor-kortikalen Erregbarkeit zu erzielen, werden Stimulationszeiten von 9 Minuten (kathodal) bzw. 13 Minuten (anodal) als optimal angesehen (Di Lazzaro & Rothwell, 2014; Nitsche & Paulus, 2000; Paulus, 2003). Nach einer anodalen Stimulation mit einer festgelegten Intensität von 2 mA (das entspricht in etwa einer intrakraniellen Stimulation von 1 mA, da diese ca. 50 % des ursprünglich applizierten Stroms darstellt (Das TMS-Buch. Springer Verlag; Siebner & Ziemann, 2007, p. 556; M. Nitsche, W. Paulus)) über eine Dauer von 20 Minuten ist die kortikale Aktivierung noch bis zu 90 Minuten nach der tDCS messbar (Batsikadze, Moliadze, Paulus, Kuo, & Nitsche, 2013). Kurz anhaltende Nachwirkungen von bis zu 10 Minuten werden durch 5 und 7 Minuten Stimulationen erreicht, während eine 9 Minuten Stimulation des Motorkortex zu Nacheffekten von etwa 1 Stunde führt (Nitsche & Paulus, 2000). Auch zeigt sich, dass die Veränderungen der MEP-Amplituden nach anodaler oder kathodaler tDCS bei den Probanden ausgeprägter sind, die sich auch empfindlicher gegenüber der TMS zeigten. Die Sensitivität wird über die bei der TMS angewendeten Intensität definiert, die notwendig ist, um bei einem Probanden eine MEP-Amplitude von 1mV zu erzeugen (Labruna et al., 2016). Während bei der TMS individuell für jeden Probanden durch die Ermittlung

der Reizschwelle zur Entstehung eines Aktionspotentials eine individuelle Intensität angewendet wird, kann diese neuronale Reizschwelle für die tDCS nicht bestimmt werden, da bei diesem Verfahren der tDCS die Schwelle zur Entstehung eines Aktionspotentials nicht erreicht wird (Wagner et al., 2007). Als sichere Parameter, die in zahlreichen Studien untersucht wurden, gelten Stromstärken von 1-2 mA mit einer Dauer von bis zu 30 Minuten (Russo, Souza Carneiro, Bolognini, & Fregni, 2017; Sampaio-Junior et al., 2018; Ziemann et al., 2008). Entscheidend ist jedoch die Stromdichte (Stimulationsstärke (A) / Elektrodenfläche (cm^2)). Bisher wurden in unterschiedlichen Studien Stromdichten von 0,029 bis 0,08 mA/ cm^2 angewendet (Nitsche et al., 2008). Jedoch wird wegen einer höheren Schmerzempfindung bei steigender Stromdichte eher die Verlängerung der Stimulationsdauer empfohlen, wenn längere Nacheffekte erzielt werden sollen (Nitsche et al., 2008).

In meiner Arbeit verwendete ich das etablierte humanphysiologische Protokoll zur anodalen Stimulation des primär motorischen Kortex mit einer Dauer von 13 Minuten und kathodalen Stimulation mit einer Dauer von 9 Minuten mit einer Intensität von jeweils 1 mA (Nitsche & Paulus, 2000).

1.2.3 Entwicklung der transkraniellen Gleichstromstimulation

Wie bereits einleitend erwähnt, haben physiologische Untersuchungen an Tier und Mensch gezeigt, dass die Gleichstromstimulation zu langanhaltenden, polaritätsabhängigen Veränderungen der kortikalen Erregbarkeit führt (Bindman et al., 1964; Creutzfeldt et al., 1962; Gartside, 1968; Nitsche & Paulus, 2000; Purpura & McMurtry, 1965), die durch einen der LTP- oder LTD-ähnlichen Mechanismus die synaptischen Verbindungen verändern kann (Cheeran et al., 2008; Fritsch et al., 2010; Huang et al., 2017; Nitsche et al., 2008; Nitsche et al., 2003; Nitsche et al., 2004; Nitsche & Paulus, 2011) und damit die Neuroplastizität beeinflussen kann.

Der folgende Abschnitt thematisiert die grundlegenden Versuche zur Erforschung der Anwendung der Gleichstromstimulation als Methode der NIBS am motorischen Kortex von Tier und Mensch.

Tierexperimentelle Studien

Die ersten systematischen Versuche zu der tDCS wurden bereits an Tieren in den 60-er Jahren des letzten Jahrhunderts unternommen (Bindman et al., 1964; Creutzfeldt et al., 1962; Purpura & McMurtry, 1965). So haben Bindman und Kollegen (1964) in Versuchen mit Ratten Gleichstrom zwischen einer am freigelegten zerebralen Kortex angelegten Elektrode und einer Referenzelektrode erzeugt. Dabei konnte eine Steigerung der Exzitabilität bei oberflächenpositiver Stimulation und eine Abnahme bei einer oberflächennegativen Stimulation beobachtet werden (Bindman et al., 1964). Auch konnte beobachtet werden, dass bei Stimulationen, die weniger als 5 Minuten andauerten, die Nacheffekte im Sinne von einer Zunahme der neuronalen Plastizität nach der anodalen und Abnahme nach kathodalen Stimulation, schnell abnahmen. Bei länger andauernden Stimulationen wurden Nacheffekte von bis zu 5 Stunden beschrieben.

So wurde damals angenommen, dass diese langanhaltenden Effekte durch die Steigerung oder Herabsetzung der neuronalen Aktivität entstehen, indem eine Veränderung des Ruhemembranpotentials erzeugt wird (Gartside, 1968). Später fand man zudem heraus, dass es zu einer Veränderung des intrazellulären Kalziumspiegels nach anodaler Stimulation kommt, sodass eine indirekte Stärkung bzw. Schwächung neuronaler Verbindungen im Sinne einer LTP oder LTD für die langanhaltenden Effekte als ursächlich angesehen wurde (Hattori, Moriwaki, & Hori, 1990; Islam, Aftabuddin, Moriwaki, Hattori, & Hori, 1995; Moriwaki, 1991). Dies wurde auch in einem Versuch am Kortex von Ratten von Hattori und Kollegen (1990) beschrieben, bei dem nach länger anhaltender anodaler tDCS ein Anstieg des intrazellulären zyklischen Adenosinmonophosphats (cAMP) und der Kalziumkonzentration beobachtet werden konnte, der auch wie bereits oben erwähnt bei einer LTP vorzufinden ist.

Bikson et al. (2004) wendeten in Versuchen an 400 µm großen Hippocampus-Kulturen direkt an den Neuronen von Ratten extrazelluläre Gleichstromstimulation an. Das positive und negative elektrische Feld wurde parallel zur somatodendritischen Achse appliziert, die Messung erfolgte intrazellulär (Bikson et al., 2004). Nach anodaler Stimulation wurde eine somatische Depolarisation und Abnahme der neuronalen Erregungsschwelle

beschrieben, nach kathodaler Stimulation hingegen eine somatische Hyperpolarisation und eine Zunahme der neuronalen Erregungsschwelle. Die anodale großflächige Stimulation löste bei 19 von 24 Versuchen epileptiforme Entladungen aus, die aber nach kathodaler großflächiger Stimulation fehlten (Bikson et al., 2004). Diese Untersuchungen haben somit gezeigt, dass durch die dendritische Depolarisation die neuronale Erregbarkeit, die auch nach Beenden der Stimulation registrierbar ist, erhöht werden kann.

Durch den Einsatz von anodaler, kathodaler und einer Schein- (eng.: sham) Gleichstromstimulation bei Ratten konnte die Veränderung der Ionen-Hämostase, die sogenannte kortikale Streudepolarisation (eng.: cortical spreading depression, CSD) nachgewiesen werden (Liebetanz et al., 2006). Dies führte zu einer sich langsam ausbreitenden Depolarisation der kortikalen Zellmembranen. Wobei die anodale tDCS zu einer Zunahme der Ausbreitungsgeschwindigkeit der CSD führte, während die kathodale und die Schein-Stimulation keinen erfassbaren Effekt aufwiesen. Diese Nacheffekte waren auch nach Beenden der Gleichstromstimulation messbar (Liebetanz et al., 2006).

2010 wendeten Fritsch et al. anodale tDCS zudem am Motorkortex von Ratten in vitro an, um die molekularen und zellulären Mechanismen, die der Wirkung der Gleichstromstimulation auf das motorische Lernen zugrunde liegen, zu untersuchen (Fritsch et al., 2010). Dabei konnte gezeigt werden, dass die Stimulation und die wiederholte synaptische Aktivierung eine Form von synaptischer Plastizität verursachen, die von einem bestimmten Wachstumsfaktor, dem sogenannten vom Gehirn stammenden neurotrophen Faktor (eng.: brain-derived neurotrophic factor, BDNF) abhängig zu sein scheint (Fritsch et al., 2010). BDNF ist dabei ein wichtiger Bestandteil der kortikalen synaptischen Plastizität (Akaneya, Tsumoto, Kinoshita, & Hatanaka, 1997; Lu, 2003) und ist auch an der NMDA-Rezeptor-abhängigen LTP und LTD beteiligt (Cheeran et al., 2008). Daraus ließ sich schließen, dass der BDNF-Wert einen Einfluss auf die Entstehung von kortikaler Plastizität hat. Wofür auch die zahlreichen Erkrankungen beim Menschen, die mit dem Mangel oder dem Überschuss dieses Wachstumsfaktors einhergehen, sprechen würden, unter

anderem Depression, Zwangsstörung und Epilepsie (Brunoni, Lopes, & Fregni, 2008; Gall, Lauterborn, Bundman, Murray, & Isackson, 1991; Maina et al., 2010).

Untersuchungen an Menschen

Natürlich war es ein großes Anliegen der Forschung, die Vorgänge der kortikalen Plastizität und die Möglichkeit, diese beeinflussen zu können, nicht nur an Tieren, sondern vor allem auch an Menschen zu untersuchen. Die klinische Anwendung der tDCS an Menschen wurde in kleineren Studien und Fallserien erstmals in den 1960-er bis 1970-er Jahren unter anderem bei Patienten mit psychiatrischen Erkrankungen, wie der Depression oder der Manie, eingesetzt, zeigte jedoch kaum signifikante Effekte und wurde daher nicht weiterverfolgt (Carney, 1969; Costain, Redfearn, & Lippold, 1964; Levy, York, McCaffrey, & Tanzer, 1984; Lolas, 1977). Auch wurden in dieser Zeit wesentliche neuropsychiatrische Pharmaka entwickelt, so dass das Interesse an den Stimulationsmethoden abnahm. Erst Ende der 90er Jahre wurde diese Methode wieder systematisch untersucht.

Durch die Möglichkeit, den Einfluss der tDCS auf den motorischen Kortex des wachen Probanden durch die TMS genauer zu erfassen, konnten die Nacheffekte verlässlich und nicht-invasiv quantifiziert werden. Dies war und ist aktuell ein sehr wichtiges Instrument für die Erforschung der motor-kortikalen Plastizität. So gelang es Priori et al. (1998) bei einer ersten Studie mit 15 gesunden Probanden, einen hemmenden Effekt auf den motorischen Kortex nach anodaler und kathodaler tDCS mit einer Intensität von $< 0,5$ mA und einer Dauer von 7 Sekunden zu quantifizieren (Priori, Berardelli, Rona, Accornero, & Manfredi, 1998).

Nitsche und Paulus (2002) beschrieben zudem in mehreren Versuchen die Wirkung von anodaler und kathodaler tDCS unterschiedlicher Dauer und einer Intensität von 1 mA auf die motor-kortikale Exzitabilität. Wobei die anodale Stimulation zur Zunahme der MEP-Amplituden (als Maß der motor-kortikalen Exzitabilität) geführt hat und die kathodale zur Abnahme der MEP-Amplituden, im Sinne einer Abnahme der motor-kortikalen Exzitabilität. So konnte während einer 4 Sekunden andauernden Stimulation eine Zunahme der kortikalen Exzitabilität nach anodaler Stimulation lediglich während der Stimulation registriert werden. Eine Stimulation, die 7 Minuten andauerte, zeigte eine

Zunahme der kortikalen Erregbarkeit nach anodaler Stimulation und Abnahme nach kathodaler Stimulation, die nur kurz nach der jeweiligen Anwendung anhielten. Sowohl die kathodale Stimulation von 9 Minuten Dauer als auch die anodale Stimulation von 13 Minuten führten zu Nacheffekten (kathodal-Abnahme und anodal-Zunahme der kortikalen Erregbarkeit), die bis zu 90 Minuten nach der Stimulation beobachtet werden konnten (Nitsche, Liebetanz, Tergau, & Paulus, 2002; Nitsche et al., 2005).

1.2.4 Pharmakologie der transkraniellen Gleichstromstimulation

Die Induktion motor-kortikaler Plastizität durch die tDCS ist ein komplexer Vorgang, bei dem eine Reihe von Rezeptoren und Transmittern eine wichtige Rolle spielen. In zahlreichen neuropharmakologischen Versuchen gelang es, die Mechanismen der stimulations-induzierten Plastizität, zu untersuchen (Das TMS-Buch. Springer Verlag; Siebner & Ziemann, 2007, p. 341; U. Ziemann). Das Wissen über diese Rezeptoren und Transmitter, die bei der Induktion kortikaler Plastizität eine Rolle spielen, und die Kenntnis über deren Funktionsweise erlauben es uns, an unterschiedlichen Punkten der Stimulation einzugreifen und somit die Effekte zu beeinflussen. Daher werde ich im Folgenden einige der wichtigsten Elemente dieser Mechanismen erläutern.

N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptoren

Der Einfluss der NMDA-Rezeptoren auf die Effektivität der motor-kortikalen tDCS wurde mehrfach mittels pharmakologischer Interventionen untersucht. So konnte man durch die Gabe von Flunarizin, einem Kalziumkanalantagonisten, vor der anodalen tDCS die Nacheffekte am motorischen Kortex aufheben (Nitsche et al., 2003). Bei den Nacheffekten der kathodalen tDCS nach Flunarizingabe konnten keine Veränderungen festgestellt werden (Nitsche et al., 2003). Den gleichen Effekt hatte auch der Natriumkanalblocker Carbamazepin auf die Nacheffekte der anodalen und kathodalen Stimulation (Nitsche et al., 2003). Folglich kann man davon ausgehen, dass die motorische Reizschwelle unter anderem durch NMDA-Rezeptoren, spannungsabhängige Natriumkanäle und Kalziumkanäle reguliert wird. Durch den Einsatz der tDCS kann diese motorische Reizschwelle beeinflusst und so die kortikale Plastizität moduliert werden.

Cholinerges System

Die nikotinenen Acetylcholin-Rezeptoren (nAChR) sind Ionenkanäle, die im zentralen und peripheren Nervensystem an der synaptischen Übertragung eine Rolle spielen.

Die cholinerge Modulation der Neuroplastizität erfolgt zum einen über NMDA-abhängige Mechanismen (Ge & Dani, 2005) zum anderen über nicht-NMDA-abhängige Vorgänge. Dabei führt die Desensibilisierung von präsynaptischen nAChR durch Nikotin zu einer Verminderung des inhibitorischen γ -Aminobuttersäure (gamma-Aminobutyric acid, GABA)-ergen Einflusses an NMDA-Rezeptoren und erleichtert damit die Ausbildung von Neuroplastizität im Sinne einer LTP (Yamazaki, Jia, Hamaue, & Sumikawa, 2005). Das cholinerge System und die tDCS wurden durch die Verwendung von Cholinesterase-Inhibitoren untersucht, die eine Verminderung der langanhaltenden Effekte nach der Stimulation mit tDCS zeigten (M.-F. Kuo, Grosch, Fregni, Paulus, & Nitsche, 2007). Dabei zeigte sich auch, dass ähnliche Effekte durch Dopamin erzielt werden, und diese Systeme eng verknüpft zu sein scheinen (M. F. Kuo, Paulus, & Nitsche, 2008). Weitere Arbeiten konnten zeigen, dass das Rauchverhalten die Nacheffekte der tDCS beeinflusst. Beispielsweise führt ein Nikotinentzug bei Rauchern zu einer Aufhebung der Effekte der anodalen, jedoch nicht der kathodalen tDCS (Grundey et al., 2012). Die Gabe von Vareniclin, einem Partialagonisten am nikotinenen Acetylcholinrezeptor konnte diesen Effekt wieder im Sinne einer Normalisierung aufheben (Batsikadze et al., 2017). Neben anderen Studien (Batsikadze, Paulus, Grundey, Kuo, & Nitsche, 2015), zeigen diese Arbeiten, dass die Effekte der tDCS auch von dem Aktivierungszustand des cholinergen Systems abhängen und neuere Arbeiten konnten eine Interaktion vom glutamatergen und cholinergen System für die Entstehung der tDCS Nacheffekte am Motorkortex aufzeigen (M. Lugon et al., 2017).

Dopaminerges System

Auch der Neurotransmitter Dopamin spielt eine wichtige Rolle bei der Entstehung der LTP- und LTD- ähnlichen Plastizität im menschlichen Kortex (Fresnoza, Paulus, Nitsche, & Kuo, 2014; Fresnoza, Stiksrud, et al., 2014; Nitsche et al., 2006). Der dopaminerge Einfluss auf die Plastizität ist komplex und hängt von der Dosis, der Art der Neurostimulation und dem Rezeptorsubtypen ab

(Fresnoza, Paulus, et al., 2014; Fresnoza, Stiksrud, et al., 2014). Nitsche et al. (2006) konnten nach der Gabe von Sulprid, einem D2-Rezeptorantagonisten, eine Aufhebung der Nacheffekte nach anodaler und kathodaler tDCS bei gesunden Probanden beobachten. In weiteren Studien mit gesunden Probanden konnte eine nichtlineare Dosisabhängigkeit der Wirkung von Dopamin auf die D1- und D2-Rezeptoren des menschlichen Motorkortex beschrieben werden (Fresnoza, Paulus, et al., 2014; Fresnoza, Stiksrud, et al., 2014).

GABA-erges System

Nitsche et al. (2004) konnten bei einem Versuch mit einer anodalen tDCS nach Lorazepamgabe, einem GABA-Agonisten, zunächst eine verzögerte, dann aber eine verstärkte und verlängerte kortikale Erregbarkeit beobachten. So konnten die Nacheffekte nach einer anodalen tDCS durch die pharmakologische Verstärkung der GABA-ergen Inhibition moduliert werden.

1.3 Transkranielle Stimulation zur Evaluation kortikaler Erregung

In meiner Arbeit verwendete ich wie bereits beschrieben die tDCS zur Induktion motor-kortikaler Plastizität. Zur Quantifizierung der Erregbarkeitsveränderungen über die Zeit im stimulierten Motorkortex habe ich die TMS in Kombination mit einer Oberflächenmyographie verwendet. Im Folgenden werden die Grundlagen dieser Methodik und die in meiner Arbeit verwendeten Protokolle beschrieben.

1.3.1 Methodik der transkraniellen Magnetstimulation

Die TMS ist ein nichtinvasives Verfahren zur Stimulation des menschlichen Gehirns (Ziemann et al., 2004; Ziemann et al., 2008). Die Methodik der Einfach- und Doppelpuls TMS wird nicht nur in der neurowissenschaftlichen Forschung eingesetzt, sondern stellt auch ein Verfahren der diagnostischen Neurologie dar. Die TMS beruht auf den Grundlagen des Faraday'schen Induktionsgesetzes (Pascual-Leone et al., 2011). Dabei erzeugt eine Magnetspule, die tangential an dem Schädel des Probanden angelegt wird, innerhalb von einer sehr kurzen Zeit kurzzeitig ein Magnetfeld. Es existieren unterschiedliche Arten von Stimulationsspulen. Am häufigsten verwendet werden die sogenannte Rundspule (klinische Anwendung) und die Doppelspule (Forschung), die aus

zwei Rundspulen besteht (Rossi, Hallett, Rossini, & Pascual-Leone, 2009). Die magnetische Flussdichte erreicht bei diesen Spulen bis zu 1,5 - 3 Tesla. Parallel zur Spulenebene entsteht in den stimulierten Strukturen ein Stromfluss, der eine entgegengesetzt verlaufende Flussrichtung zum Spulenfluss hat (Cincotta et al., 2005). Die Intensität, die Lokalisation und Ausrichtung der Magnetspule kann angepasst werden und beeinflusst auch das Resultat der Stimulation. Das Magnetfeld kann ungehindert durch die Schädeldecke durchdringen und eine Erregung der in diesem Bereich lokalisierten Neuronen hervorrufen. Dabei werden bei der TMS bevorzugt die Interneurone der Pyramidenbahnzellen, die mit ihren Axonen parallel zur Kortexoberfläche liegen, stimuliert (Di Lazzaro & Rothwell, 2014; Ziemann et al., 2015). Die Auswirkung der TMS ist prinzipiell von verschiedenen Stimulationsparametern abhängig. Dazu gehören die Parameter Intensität der Stimulation mit der Stromdichte (Stimulationsstärke / Elektrodenfläche), Dauer der Stimulation mit der Gesamtladung (Stromstärke / Elektrodenfläche x Stimulationsdauer), Frequenz der Stimuli mit der Ladung pro Phase (Stromstärke x Dauer eines Einzelimpulses), Anzahl dieser Stimuli und Ort der Abgabe dieser Stimuli (Siebner & Ziemann, 2007, p. 547).

Es werden, je nach Anzahl der aus derselben Spule applizierten Reize, die Einzelpulsmessungen und die Doppelpulsmessungen unterschieden, aus welchen sich unterschiedliche Messprotokolle ableiten lassen. Die Einzelpulsmessung besteht aus einem einzelnen stimulierenden Reiz, wobei bei der Doppelpulsmessung prinzipiell zwei Pulse durch die gleiche Spule abgegeben werden (Ziemann et al., 2015). Dabei sind sowohl die Intensitäten als auch die Abstände zwischen den einzelnen Pulsen variabel und ermöglichen die Messung einer intrakortikalen Bahnung oder Hemmung (Kujirai et al., 1993; Ziemann et al., 2015; Ziemann, Rothwell, & Ridding, 1996). Im folgenden Abschnitt werden einige Einzelpuls-Messprotokolle, die ich in meiner Arbeit verwendet habe, zur Bestimmung der motor-kortikalen Erregbarkeit und ihre physiologischen Grundlagen näher beschrieben.



Abbildung 1: Das Magnetfeld durchdringt die Schädeldecke und erzeugt einen elektrischen Stromfluss (Faraday'sches Gesetz). Schematische Darstellung. Entspricht nicht der Stimulation des Motorkortex des rechten Musculus interosseus dorsalis in meiner Arbeit, Abbildung entnommen und angepasst aus (Ridding & Rothwell, 2007)



Abbildung 2: Schematische Darstellung der praktischen Anwendung. Entspricht nicht der Stimulation des Motorkortexes des rechten Musculus interosseus dorsalis in meiner Arbeit

1.3.2 Einzelpulsmessungen

Motorische Ruheschwelle

Die motorische Ruheschwelle (MT) ist definiert als die minimale TMS-Intensität, die notwendig ist, um ein Schwellen-MEP ($\geq 50 \mu\text{V}$ in 5 von 10 Impulsen) im stimulierten Muskel auszulösen (Ziemann et al., 2015). Man unterscheidet die motorische Ruheschwelle (RMT), die während fehlender willkürlicher Kontraktion des Muskels durch den Probanden registriert wird von der aktiven motorischen Ruheschwelle (AMT), die während einer geringen willkürlichen

Muskelanspannung des Zielmuskels (in der Regel 20 % der vollen Muskelkraft) durch den Probanden beobachtet werden kann (Ziemann et al., 2015).

Die dabei erzeugten Muskelkontraktionen werden elektromyographisch an vorher festgelegten peripheren und quergestreiften Zielmuskeln registriert (Rossini et al., 2015; Ziemann et al., 2015). Durch die intrinsische Schwankung der kortikalen und spinalen Exzitabilität besteht von Untersuchung zu Untersuchung eine Variabilität der MEP-Amplituden (Rossini et al., 2015). Dieses sogenannte physiologische Rauschen erschwert die Genauigkeit der Ermittlung der MT (Rossini et al., 2015), so dass hier mehrere Pulse appliziert werden müssen bevor die Schwellen festgelegt werden. Während diese physiologischen Störfaktoren nicht vollständig eliminiert werden können, sollten die externen technischen und physiologischen Variablen wie die Position und Ausrichtung der Spule, der individuelle Erregungslevel und die Geräuschkulisse während der gesamten Ermittlung der MT konstant gehalten werden (Rossini et al., 2015). In meiner Arbeit habe ich die RMT verwendet.

Amplitude der motorisch evozierten Potentiale

Die Spitze-zu-Spitze (eng.: peak-to-peak) Amplitude der MEP zeigt einen sigmoidalen Anstieg in Abhängigkeit von der Stimulationsintensität (Moller, Arai, Lucke, & Ziemann, 2009; Ziemann et al., 2015). Die MEP-Größen sind etablierte Kenngrößen für die Quantifizierung der kortikalen Erregbarkeit vor und nach transkranieller Neurostimulation (Di Lazzaro et al., 2006; Ilic et al., 2002; Nitsche & Paulus, 2000; Priori et al., 1998; Wiethoff et al., 2014). Da intrinsische Schwankungen der neuronalen Exzitabilität von Messung zu Messung bestehen (Rossini et al. 1994), wird empfohlen die mittlere MEP-Amplitude aus mehreren MEPs als Marker für die motor-kortikale Exzitabilität zu verwenden (Wassermann, 2002). Diese Variabilität der MEP-Amplitude in aufeinanderfolgenden Messungen kommt durch die Schwankungen der kortikalen und spinalen Erregbarkeit zustande (Kiers, Cros, Chiappa, & Fang, 1993). Um diese Schwankungen zu minimieren, sollten die Untersuchungsbedingungen im Verlauf der Messungen wie bereits erwähnt, konstant gehalten werden. In der Literatur werden 10 bis 40 MEPs pro Zeitpunkt gemittelt, um eine reliable Abschätzung der Erregbarkeit zu erhalten.

Input-Output Kurve / Rekrutierungskurve

Der Zusammenhang zwischen den Stimulationsintensitäten und der MEP-Amplitude sind in Form einer sigmoidalen Kurve darstellbar, der sogenannten „input-output curve“ (I/O) / Rekrutierungskurve (Devanne, Lavoie, & Capaday, 1997; Moller et al., 2009; Pitcher, Ogston, & Miles, 2003), wobei die Zunahme der Stimulationsintensität eine Steigerung der Kurve verursacht (Davey et al., 1999).

1.4 Interindividuelle Variabilität im Antwortverhalten

Wie in meiner Einleitung bereits dargestellt, ermöglicht die Anwendung der Methoden der NIBS, die motor-kortikale Erregbarkeit nachhaltig zu verändern und damit das Verhalten reversibel zu beeinflussen (Ridding & Ziemann, 2010). Das Antwortverhalten auf die NIBS weist dabei eine hohe Variabilität auf, was in letzter Zeit zunehmend Beachtung findet (M. Hamada, Murase, Hasan, Balaratnam, & Rothwell, 2013; Masashi Hamada & Rothwell, 2016; Lopez-Alonso, Cheeran, Rio-Rodriguez, & Fernandez-Del-Olmo, 2014; Opitz, Paulus, Will, Antunes, & Thielscher, 2015; Ridding & Ziemann, 2010; Strube et al., 2015). Das Antwortverhalten eines individuellen Probanden auf diese Stimulationsverfahren ist jedoch bis heute kaum genau vorhersehbar (Masashi Hamada & Rothwell, 2016). Diese Variabilität im interindividuellen Antwortverhalten begrenzt bis heute noch den therapeutischen Nutzen dieser Methoden und stellt eine besondere Herausforderung für vergleichende Untersuchungen zwischen gesunden und kranken Probanden dar. Die Gründe für diese Variabilität sind multifaktoriell und in ihrer Komplexität bis zu einem gewissen Grad unbekannt (Masashi Hamada & Rothwell, 2016; Ridding & Ziemann, 2010). Daher stellt die Ergründung dieser Faktoren einen wichtigen Gegenstand der aktuellen Forschung dar. Es wurden bereits eine Reihe von verschiedenen Determinanten wie Genetik, Geschlecht, Alter, anatomische Merkmale (kortikale Architektur und Distanz zwischen Stimulationselektrode sowie Stimulationsspule und Gehirn) und physiologische Faktoren (individuelle Rekrutierung von Interneuron-Netzwerken oder Vorgeschichte der synaptischen Aktivität) entdeckt, die die Wirksamkeit der NIBS und ihre Nachwirkungen beeinflussen können (M. Hamada et al., 2013; Masashi Hamada & Rothwell,

2016; Ridding & Ziemann, 2010; Strube et al., 2015). Im Allgemeinen lassen sich intrinsische von extrinsischen Faktoren unterscheiden (Masashi Hamada & Rothwell, 2016; Ridding & Ziemann, 2010). Zu den intrinsischen Faktoren zählen unter anderem das Alter, das Geschlecht und die Genetik, diese Variablen können nicht modifiziert werden. Zu der extrinsischen Gruppe gehören die Faktoren, die potentiell veränderbar und somit kontrollierbar sind wie Zeitpunkt der Stimulation (Morgens oder Abends), körperliche Aktivität, Vorgeschichte der synaptischen Exzitabilität, pharmakologische Einflüsse und Aktivitätszustand des Kortex (Masashi Hamada & Rothwell, 2016; Ridding, Taylor, & Rothwell, 1995). Im Vergleich zu der ersten Gruppe können die extrinsischen Faktoren im Laufe des Lebens beeinflusst werden. Das bessere Verständnis und die Berücksichtigung dieser Faktoren, die das interindividuelle Antwortverhalten auf die NIBS beeinflussen, sind entscheidend für die Optimierung der Anwendung und eine bessere Prognose der Response (Ridding & Ziemann, 2010). Im folgenden Abschnitt werde ich auf einige dieser Faktoren näher eingehen.

1.4.1 Intrinsische Faktoren

Zu den intrinsischen Faktoren zählen Einflussgrößen, die nicht variabel sind und einen Einfluss auf die kortikale Plastizität haben (Ridding & Ziemann, 2010). Dazu gehören wie zuvor erwähnt unter anderem das Alter, das Geschlecht und genetische Faktoren (Masashi Hamada & Rothwell, 2016).

Mit zunehmendem Alter nimmt zum Beispiel die Gedächtnisleistung und die Lernfähigkeit ab (Ridding & Ziemann, 2010). Auch eine Reduktion der durch nicht-invasive Stimulationsverfahren induzierten kortikalen Plastizität konnte mit zunehmendem Alter beobachtet werden. So war die Plastizität des motorischen Kortex, die durch den Einsatz der PAS induziert wurde, bei jungen Probanden größer als bei älteren (Muller-Dahlhaus et al., 2008). Auch nach Anwendung der rTMS konnte eine geringere Plastizitätsentwicklung des Motorkortex bei älteren Probanden beschrieben werden (Todd, Kimber, Ridding, & Semmler, 2010). Das bedeutet, dass bei älteren Probanden eine geringere Entwicklung der kortikalen Plastizität nach Anwendung der tDCS erwartet werden kann als bei jüngeren Probanden.

Übersichtsarbeiten zeigen, dass zudem das Geschlecht und die Geschlechtshormonkonzentration eine Auswirkung auf die neuronale Plastizität

haben (Blakemore, Burnett, & Dahl, 2010). In tierexperimentellen Studien konnte bereits ein Zusammenhang zwischen dem Geschlecht und der Entwicklung der kortikalen Plastizität beobachtet werden (Galea, Spritzer, Barker, & Pawluski, 2006; McEwen, 1994). Bei Menschen wurde in einer retrospektiven Studie das Antwortverhalten von weiblichen und männlichen Probanden nach einer tDCS über dem motorischen Kortex untersucht (M. F. Kuo, Paulus, & Nitsche, 2006). Dabei zeigte sich nach der kathodalen tDCS eine verlängerte Reaktion bei den weiblichen Probanden im Vergleich zu den männlichen (M. F. Kuo et al., 2006). Man geht davon aus, dass die Frauen eher auf die NIBS ansprechen (Ridding & Ziemann, 2010). Eine sichere Erklärung für diese Beobachtung gibt es aber bisher noch nicht. Insgesamt gibt es zwar viele theoretische Überlegungen über intrinsische Faktoren, wobei die experimentelle Basis hierfür weiterhin noch nicht zufriedenstellend ist und weitere aufbauende Untersuchungen erforderlich sind.

1.4.2 Extrinsische Faktoren

Zu den extrinsischen Einflussgrößen zählen Determinanten, die im Gegensatz zu den intrinsischen Faktoren, potentiell moduliert werden können und einen Einfluss auf die durch NIBS induzierte kortikale Plastizität aufweisen (Masashi Hamada & Rothwell, 2016). Das Verständnis dieser Determinanten ist für die Optimierung der therapeutischen Anwendungen der NIBS von entscheidender Bedeutung (Ridding & Ziemann, 2010), da diese Gruppe von Determinanten auch in Hinblick auf das Antwortverhalten verändert werden kann. Zu diesen Determinanten zählen unter anderem das Rauchverhalten, die Geschichte der synaptischen Exzitabilität und der Zeitpunkt der Stimulation.

2. Zielsetzung der Studie

Ziel meiner Arbeit war die Untersuchung der interindividuellen Variabilität des motor-kortikalen Antwortverhaltens auf die anodale und kathodale tDCS bei gesunden Probanden. Ein standardisiertes Protokoll zur Anwendung der tDCS am Motorkortex aus vorherigen Studien kam wie folgt zum Einsatz: 59 gesunde Probanden wurden mit einer Intensität von 1 mA und einer Dauer von 13 Minuten anodal und mit 1 mA über die Dauer von 9 Minuten kathodal stimuliert. Diese Parameter wurden zwar bereits bezüglich ihrer polaritätsspezifischen Nacheffekte auf den Motorkortex untersucht (Nitsche & Paulus, 2011), aber die interindividuelle Variabilität im Antwortverhalten auf die tDCS wurde bisher allerdings nur unzureichend systematisch erfasst. Gegenstand meiner Arbeit war es, genau diese Unterschiede im Antwortverhalten bei gesunden Probanden als Reaktion auf die tDCS des Motorkortex als eine der wesentlichen Techniken der NIBS zu untersuchen. In dem experimentellen Teil dieser Arbeit beobachte ich in zwei verschiedenen Sitzungen die Auswirkung der anodalen und kathodalen tDCS auf die kortikale Erregbarkeit des motorischen Kortex von gesunden Probanden unter dem Gesichtspunkt der Variabilität im interindividuellen Antwortverhalten. Zur Erfassung der motor-kortikalen Erregbarkeit vor und nach der Stimulation verwendete ich dabei die TMS. Ich habe mich für das klassische Protokoll entschieden, um möglichst sicher die Variabilität im Antwortverhalten auf andere Faktoren und nicht die unterschiedlichen Stimulationsparameter beziehen zu können, da die Wirkungen nach einer tDCS ein nicht-lineares Verhalten bezüglich der Stimulationsintensität und Dauer zeigen.

Mit Hilfe der Ergebnisse meiner Arbeit sollten folgende Fragen beantwortet werden können:

1. Können in meiner Arbeit, die bereits in zahlreicher Literatur beschriebenen Veränderungen der motor-kortikalen Exzitabilität durch die Anwendung der anodalen tDCS reproduziert werden? Dies würde bedeuten, dass die anodale tDCS unter Verwendung der Standardparameter (siehe oben) die motor-kortikale Erregbarkeit erhöht und dieser Gruppeneffekt mittels TMS erfassbar wäre.

2. Können Veränderungen der motor-kortikalen Exzitabilität durch die Anwendung der kathodalen tDCS erzielt werden, die nach der Hypothese zu einer Abnahme der motor-kortikalen Erregbarkeit führen sollten?
3. Unterliegen die Ergebnisse der Stimulation einer signifikanten interindividuellen Variabilität und können Subgruppen identifiziert werden?
Um die Vergleichbarkeit zu früheren Publikationen zu erhalten (M. Hamada et al., 2013; Wiethoff et al., 2014), verwendete ich ein Cross-Over-Design mit entsprechenden Bedingungen.

3. Materialien und Methoden

3.1 Studienteilnehmer

An der Studie nahmen insgesamt 59 gesunde Probanden teil, davon 31 Frauen und 28 Männer. Das Durchschnittsalter lag bei 27,59 Jahren ($\pm 7,72$).

3.1.1 Einschlusskriterien

Jeder Proband wurde vor der ersten Sitzung sowohl schriftlich als auch mündlich über die Studie aufgeklärt. Die Probandenaufklärung beinhaltet folgende Informationen:

- Hintergrund und die Ziele des Forschungsvorhabens
- Verwendete Untersuchungsmethoden und deren Ablauf
- Verwendete Fragebögen
- Mögliche Risiken der Untersuchungen
- Versicherungsschutz
- Datenschutz der erhobenen Daten

Das Unterschreiben der Einwilligungserklärung vor der Durchführung der Untersuchungen durch den Studienteilnehmer und den Studienarzt war Voraussetzung für die Studienteilnahme. Zusätzlich wurden die Probanden darüber aufgeklärt, dass bei vermindertem Schlaf, einem akuten Infekt oder dem vorherigen Drogen- oder Alkoholkonsum durch den Studienteilnehmer die Messungen nicht stattfinden können. Zu den Einschlusskriterien gehörten mitunter:

- Einwilligungsfähigkeit
- Schriftliche Einverständniserklärung
- Alter zwischen 18 und 60 Jahren

3.1.2 Ausschlusskriterien

Für die Studie nicht geeignete Probanden wurden ausgeschlossen.

Bei Vorliegen folgender allgemeiner und spezieller Ausschlusskriterien war eine Teilnahme an der Studie nicht möglich:

1. Fehlende Einwilligungsfähigkeit
2. Vorhandensein eines Herzschrittmachers oder Defibrillators
3. Intrazerebrale Metallimplantate (Platten, Clips, künstliche Hörschnecke o.ä.)
4. Gesetzliche Unmündigkeit (z.B. Betreuung)
5. Alter < 18 oder > 60 Jahre
6. Hinweise auf epileptische Anfälle in der Vorgeschichte
7. Vorliegen einer gravierenden internistischen oder neurologischen Vorerkrankung
8. Teilnahme an einer klinischen Prüfung in den letzten Wochen
9. aktuelle Alkohol- oder Drogenabhängigkeit
10. Schwangerschaft oder Stillperiode
11. Aktuelle zentralvenöse Medikation

Die soziodemographischen und -biografischen Daten wurden bei jedem Probanden mittels eines standardisierten Fragebogens ermittelt. Die Händigkeit wurde zusätzlich nach dem Edinburgh handedness inventory (Oldfield, 1971) bestimmt.

Alle Versuchspersonen wurden gebeten, Auffälligkeiten und Nebenwirkungen, die während oder nach dem Versuch auftreten, dem Studienarzt zu melden.

Die Auswertung der Daten erfolgte verschlüsselt, so dass alle Erfordernisse des Datenschutzes beachtet worden sind. Die Studie wurde von der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München geprüft und unter der laufenden Nummer 197-13 genehmigt.

Bei dem ersten Teil der Probanden (10 anodale, 10 kathodale Sitzungen) wurden alle Messungen und Auswertungen von mir durchgeführt. Die Messungen aller weiterer Probanden wurden durch Mitarbeiter der Arbeitsgruppe gemäß der angefertigten Protokolle durchgeführt, da aufgrund einer unerwarteten Diagnose und der damit verbundenen kardialen Defibrillator-Implantation während der experimentellen Phase eine Fortsetzung der Arbeit mit einem Magnetstimulator aufgrund der starken Magnetfelder am Gerät (bis zu 1,5 T) für mich fortan kontraindiziert war. Die weitere Auswertung aller erhobenen Daten wurde hingegen weiterhin von mir durchgeführt.

3.2 Versuchsaufbau und Versuchsdurchführung

3.2.1 Zeitpunkt der Versuche

Das Antwortverhalten auf eine NIBS ist von der Tageszeit abhängig, in welcher die Stimulation durchgeführt wird (Sale, Ridding, & Nordstrom, 2007). Um mögliche Einflüsse durch zirkadiane Effekte zu minimieren, wurden beide Messungen eines Probanden in den gleichen Tagesabschnitten durchgeführt. Diese fanden zwischen 08.00 und 12.00 Uhr, 12.00 und 16.00 Uhr und 16.00 und 20.00 Uhr statt.

Die Probanden nahmen an insgesamt zwei experimentellen Sitzungen an zwei unterschiedlichen Tagen mit einer Dauer von ca. 2,5 Stunden pro Sitzung teil. Während der zwei Sitzungen waren die Versuchsprotokolle identisch bis auf die Stimulationsart und Stimulationsdauer. Der genauere Aufbau des Versuchsprotokolls wird im weiteren Verlauf beschrieben.

Eine der Sitzungen beinhaltete die anodale Stimulation (atDCS) über 13 Minuten, die andere Sitzung die kathodale Stimulation (ctDCS) mit einer Dauer von 9 Minuten. 49 der Teilnehmer erhielten am ersten Termin eine anodale tDCS, die restlichen Teilnehmer am ersten Termin eine kathodale tDCS. Die Termine der ersten und der zweiten Sitzung lagen im Mittel 7,42 Tage ($\pm 2,33$ Tage) auseinander. Beide Messungen wurden immer vom gleichen Untersucher durchgeführt.

3.2.2 Vorbereitung

Die Probanden saßen während der Messungen in einer entspannten Körperhaltung auf einem Sessel mit leicht zurückgestellter Kopflehne. Der Blick der Studienteilnehmer war auf ein Fenster mit ruhigen Ausblick gerichtet, wobei visuelle Reize und Ablenkungen vermieden werden sollten. Jeder der Probanden wurde vor den Messungen darauf hingewiesen, während dieser unnötige Bewegungen und das Sprechen zu vermeiden. Aufgrund der möglichen Störungen der messenden Geräte wurden Mobiltelefone und andere elektronische Geräte während der Messungen ausgeschaltet. Die entspannte rechte Hand wurde auf einem Kopfkissen platziert. Der rechte Handrücken wurde mit Desinfektionsspray gereinigt und entfettet und anschließend für die weiteren Schritte vorbereitet (siehe unten).

3.2.3 Oberflächenelektromyographie

Bei der Durchführung der Oberflächen-Elektromyographie (EMG) wird die elektrische Aktivität im ruhenden Muskel (Spontanaktivität des Muskels) (Kaelin-Lang & Cohen, 2000) gemessen (Magistris, Rosler, Truffert, & Myers, 1998).

Über dem ersten rechten dorsalen interossären Muskel (FDI) befestigten wir eine Messelektrode und eine Referenzelektrode am Zeigefinger mit einem Klebestreifen und befeuchteten diese mittels einer Spritze mit Elektrogel. Auf dem ipsilateralen Unterarm wurde nach Entfettung des Hautareals mit Desinfektionsspray eine Elektrode zur Erdung angebracht.



Abbildung 3: Oberflächenelektroden

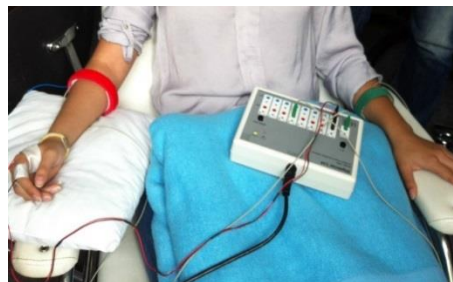


Abbildung 4: Durchführung Oberflächen-EMG

Der Proband wurde gebeten, die rechte Hand soweit wie möglich zu entspannen, um die Spontanaktivität des Muskels zu minimieren. Die Entspannung der Hand wurde per Oberflächen-EMG visuell bei allen Messungen durchgehend überwacht. Bei einigen Probanden war es nötig, eine zusätzliche zweite Erdung anzubringen, um Artefakte zu unterdrücken. Das Roh-Signal wurde mit einem Digitimer D-360 (Digitimer Ltd., UK) verstärkt, bandpass-gefiltert (3 Hz – 2 kHz) und mit 5 kHz unter der Verwendung eines 1401 Analog-Digital-Umsetzers (Cambridge Electronics Design Ltd.; Cambridge, UK) digitalisiert an den PC weitergeleitet. Zur Aufnahme der Signale wurde die SIGNAL Software (Version

5, Cambridge Electronic design, UK) mit standardisierten Konfigurationen verwendet.

3.2.4 Transkranielle Magnetstimulation

Ich verwendete die TMS zur Quantifizierung der motor-kortikalen Erregbarkeit des linken primär motorischen Kortex vor und nach der anodalen und kathodalen Gleichstromstimulation. Die Spule wurde von der messenden Person, die sich hinter dem Studienteilnehmer befand, manuell über dem linken Motorkortex des jeweiligen Probanden gehalten. Hilfsmittel zur Fixierung der Spule wurden nicht eingesetzt. Um eine Aktivierung des rechten FDI zu bewirken, wurde gezielt über der Kopfposition der funktionell bestimmten Area 4 des Motorkortex der linken Seite stimuliert. Dazu wurde eine fokale Magstim 70 mm Doppelringspule (The Magstim Company Ltd, UK) und ein Magstim Bistim² Stimulatorsystem (The Magstim Company Ltd, UK) verwendet.

3.2.5 Optimaler Stimulationspunkt

Vor jeder Sitzung musste bei jedem Studienteilnehmer der optimale Stimulationspunkt mittels TMS individuell ermittelt werden. Dabei ist sowohl die Ausrichtung als auch die Lokalisation der Spule wichtig. Zu Beginn wurde die Spule tangential zur Kalotte in einem 45° Winkel zur Sagittalachse des Schädels über dem zu erwartenden Repräsentationsareal des rechten FDI gehalten (Di Lazzaro et al., 1998; Rossini et al., 2015). Die Spule wurde solange in kleinen Abständen über der anatomisch angenommenen Position des motorischen Kortex der linken Hemisphäre bewegt bis eine stabile Aufzeichnung von motorisch evozierten Potentialen mit einer ausreichenden Größe möglich war. Diese Spulenposition wurde mittels eines wasserfesten roten Stiftes an zwei Stellen der Kopfhaut markiert. Diese Markierungen wurden für alle folgenden Messungen dieser Sitzung verwendet, um die korrekte Spulenposition zu ermöglichen.

3.2.6 Messparameter und Versuchsdurchführung

In der Studie wurden verschiedene TMS-Einzelreizmessungen durchgeführt. Der Aufbau und die Abfolge der jeweiligen Messprotokolle waren bei jedem Studienteilnehmer identisch. Die Messprotokolle werden im Folgenden genauer

erläutert. In allen Versuchen wurden TMS Pulse mit einem Abstand von 5 Sekunden appliziert.

3.2.7 TMS-Einzelpulsmessungen

Bestimmung der 1mV-Intensität

Bei der 1mV-Intensität (S1mV) handelt es sich um die Intensität, die bei dem Magnetstimulator eingestellt werden muss, um eine MEP-Amplitude von 1 mV ($\pm 0,3$ mV) zu erzeugen. Diese Intensität muss bei jedem Studienteilnehmer vor jeder Sitzung individuell ermittelt werden und wird in Prozent angegeben, wobei 100% der maximalen Leistung des verwendeten TMS-Stimulators entsprechen.

Bestimmung der motorischen Ruheschwelle (RMT)

Zur Bestimmung der RMT wurde zunächst die S1mV eingestellt. In 1% Schritten erfolgte die manuelle Reduktion der Stimulationsintensität, solange bis mindestens 5 von 10 aufeinander folgenden Impulsen eine Amplitude von ≥ 50 μ V erzeugen. Dieser Wert wurde als motorische Ruheschwelle festgelegt und musste bei jedem Probanden vor jeder Sitzung individuell ermittelt werden.

Messung der Baseline MEP mittels der S1mV

Nach Bestimmung der S1mV wurden die Baseline-MEP, die aus 40 Einzelimpulsen bestehen, mit dem standardisierten Protokoll unter der S1mV gemessen. Die S1mV wurde zur Bestimmung der MEP-Amplituden vor und nach Stimulation verwendet. Die MEP nach der Stimulation wurden direkt im Anschluss und 5, 10, 20, 30 und 40 Minuten nach der Stimulation mit jeweils 20 Einzelimpulsen erfasst. Insgesamt wurden 120 MEP nach Stimulation gemessen.

Messung der Input/Output (I/O) Kurve

Das Messprotokoll bestand aus jeweils 3 Staffeln von 7 Impulsen mit ansteigender Stimulationsstärke. Dabei waren die Intensitäten der ersten 7 Impulse 90 % der RMT, der zweiten 7 Impulse 110% der RMT und der dritten 7 Impulse 130 % der RMT. Zwischen jeder Stufe lag eine Pause von 10 Sekunden.

3.2.8 Transkranielle Gleichstromstimulation

Zur tDCS verwendeten wir den Eldith DC Stimulator Plus der Firma Neuroconn, Ilmenau (*Abbildung 5*). Die anodale Stimulation dauerte 13 Minuten und die

kathodale Stimulation 9 Minuten. Die Stimulationsintensität betrug für die beiden Polaritäten 1mA (Nitsche & Paulus, 2000, 2001, 2011). Durch vorherige Entfettung der Kopfhautareale und ausreichende Befeuchtung der Elektroden wurde der Hautwiderstand reduziert und während der Messung durch das verwendete Gerät überwacht. Vor der Stimulation wurden die Elektroden von einem mit 0,9 %iger NaCl-Lösung befeuchteten Schwamm (Oberfläche 35 cm², 7 x 5 cm) überzogen, um Hautläsionen zu vermeiden und die Impedanz zu senken (Palm et al., 2014). Bei der anodalen Stimulation wurde die anodale Elektrode nach Entfettung der Kopfhaut über dem im Rahmen der TMS bereits ermittelten Stimulationspunkt für den linken primär-motorischen Kortex mit einem Gummiband fixiert. Die kathodale Elektrode wurde über der kontralateralen Orbita ebenfalls mit einem Gummiband befestigt.

Bei der kathodalen Stimulation war die Positionierung der Elektroden genau umgekehrt. Diese Positionierung der Elektroden ist geeignet, um eine signifikante Veränderung der Erregbarkeit des stimulierten motorischen Areals zu erzielen (Nitsche et al., 2008).



Abbildung 5: tDCS-Gerät



Abbildung 6: Anodale tDCS



Abbildung 7: Kathodale tDCS

3.2.9 Zusammenfassung der Versuchsprotokolle

Die Gesamtdauer der Messungen betrug pro Sitzung ca. 2,5 Stunden. Die erste Sitzung nahm dabei durch die Aufklärung und Erhebung der soziodemografischen Daten (Punkt 1 bis 5) mehr Zeit in Anspruch.

Nur bei der ersten Sitzung:

1. Aufklärung des Probanden
2. Ausschluss von Kontraindikationen
3. Unterschreiben der Einverständniserklärung durch Arzt und Studienteilnehmer
4. Beantworten der Fragebögen

Bei beiden Sitzungen:

5. Anbringen der Elektroden, EMG des rechten FDI
6. Ermittlung des optimalen Stimulationspunktes
7. Ermittlung der 1mV-Intensität (S1mV)
8. Ermittlung der RMT
9. Messung der Baseline MEP (40 Stimuli prä-tDCS)
10. Messung der I/O prä-tDCS (25 Stimuli)
11. Anschluss der Elektroden für die tDCS
 - Anodale Stimulation (13 Minuten): Anode über dem Motorkortex
oder
 - Kathodale Stimulation (9 Minuten): Kathode über dem Motorkortex

12. Entfernen der Elektroden für das tDCS
13. MEP 0 Minuten post tDCS (20 Stimuli)
14. MEP 5 Minuten post tDCS (20 Stimuli)
15. MEP 10 Minuten post tDCS (20 Stimuli)
16. MEP 20 Minuten post tDCS (20 Stimuli)
17. I/O post tDCS (21 Stimuli und 2 x 2 Stimuli Pause)
18. MEP 30 Minuten post tDCS (20 Stimuli)
19. MEP 40 Minuten post tDCS (20 Stimuli)
20. Entfernen der Elektroden
21. Verabschieden des Probanden

3.3 Statistik und Auswertung

Die Auswertung der Daten aus dem SIGNAL-Aufzeichnungsprogramm (Version 5, Cambridge Electronic Design, UK) erfolgte manuell im Offline-Modus nach Beendigung der einzelnen Sitzungen mit dem Auswertungsprogramm NuCursor (Sobell Research Department of Motor Neuroscience and Movement Disorders, Institute of Neurology, University College of London). Zur Bestimmung der gemittelten Amplitudengrößen der MEP für jede Messung wurde der Bereich vom größten bis zum kleinsten Umschlagpunkt (Spitze-zu-Spitze Messung) ermittelt. Die statistischen Berechnungen erfolgten mit Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) Version 23 (IBM, Armonk, NY, USA). Das Signifikanzniveau wurde für alle statistischen Analysen als $\alpha = 0,05$ festgelegt. Zur Überprüfung der Unterschiede der Baseline der kortikalen Erregbarkeit zwischen der anodalen und kathodalen Sitzungen bei jedem Probanden wurde der t-Test für gepaarte Stichproben für alle abhängigen Variablen verwendet (RMT, S1mV, MEP Amplituden). Der zeitliche Verlauf der Änderung der kortikalen Erregbarkeit (MEP Amplituden) wurde mit Hilfe der Varianzanalyse für Messwiederholungen (repeated measures ANOVA, RM-ANOVA) mit den Innersubjekt-Faktoren „Zeit“ (Baseline, 0 min, 5 min, 10 Minuten, 20 Minuten, 30 Minuten, 40 Minuten) und „tDCS“ (anodal, kathodal) analysiert. Die Input-Output Kurven vor und nach der tDCS wurden mittels RM-ANOVA einschließlich der innersubjekt-Faktoren „Zeit“ (vor und nach tDCS) und „Intensität“ (90%, 110%, 130%) jeweils getrennt für die anodale und kathodale Stimulation verglichen.

Als nächster Schritt erfolgte ein hierarchisches Clustering jeweils von den gesamten MEP Rohdaten vor und nach den anodalen und kathodalen tDCS-Sitzungen (Baseline, 0 min, 5 min, 10 Minuten, 20 Minuten, 30 Minuten, 40 Minuten). Es wurden die „Ward-methode“ als Cluster-Verfahren und die „Squared Euclidean distance“ als Intervall-Maß angewendet (Murtagh & Legendre, 2014). Es wurden 2 bis 4 mögliche Lösungen für jede Polarität untersucht und am Ende eine Analyse mit Erstellung von 2 Clustern verwendet, da nur für dieses Vorgehen Cluster mit einer ausreichenden Fallzahl durch den Algorithmus erstellt worden sind. Für beide tDCS Sitzungen konnten somit zwei stabile Cluster für den MEP Verlauf identifiziert werden, die als Zwischensubjektfaktoren in den anschließenden Analysen einbezogen wurden.

Zunächst wurden die demographischen Daten und die Baseline Daten der kortikalen Erregbarkeit (RMT, S1mV, MEP) zwischen den zwei Clustern jeder einzelnen tDCS-Sitzung mittels zweiseitig unabhängigen t-Tests oder χ^2 -Tests verglichen. Anschließend wurden gemischt-faktorielle RM-ANOVAs mit dem Zwischensubjekt-Faktor „Cluster“ und dem Innersubjekt-Faktor „Zeit“ für anodale und kathodale tDCS separat berechnet. Schließlich wurden gemischt-faktorielle ANOVAs für beide tDCS-Sitzungen mit den interindividuellen Faktoren „Zeit“ und „Intensität“ ermittelt, um die Unterschiede der Rekrutierungskurven zwischen den Zwischensubjekt-Faktoren vor und nach der tDCS zu vergleichen.

Weiterhin wurde basierend auf Vorarbeiten (Hamada et al. 2013, Wiethoff et 2014) das mittlere normalisierte Antwortverhalten (Grand Average, GA) ausgehend von dem Mittelwert der post-tDCS Werte berechnet. Die Verteilung von GA Respondern/Non-Respondern wurde dann mittels deskriptiver Statistiken verglichen. Signifikante Effekte in den linearen Modellen wurden mit Least Significant Difference (LSD) Tests für Innergruppenvergleiche oder zweiseitige, unabhängige t-Test für Vergleiche zwischen den Gruppen für Zwischengruppenvergleiche kontrastiert.

Pearson-Korrelationen wurden zwischen den physiologischen Baseline-Variablen (RMT, S1mV, MEP Amplitude, RECR90%, 110%, 130%) und den gemittelten post-tDCS MEP Amplituden für beide Polaritäten berechnet.

Zur Überprüfung der Sphärizität der ANOVA-Daten wurde der Mauchly-Test eingesetzt. Bei Verletzung der Sphärizität (Mauchly-Test < 0,05) wurde die Greenhouse-Geisser Korrektur angewendet. Falls bei unabhängigen t-Tests

Hinweise für eine Varianzinhomogenität bestanden haben (Levene's Test < 0,05), wurde eine Korrektur der Freiheitsgrade mittels der in SPSS implementierten Korrektur (Welch-Satterthwaite Methode) vorgenommen. Die post-hoc Tests wurden nicht für multiple Vergleiche korrigiert, da diese nur dann durchgeführt worden sind, wenn in der vorherigen Varianzanalyse ein signifikanter Effekt gezeigt werden konnte.

Sofern nichts anderes vermerkt ist, sind die Daten in den Tabellen und im Text als Mittelwert \pm Standardabweichung (SD) und in den Abbildungen als Mittelwert \pm Standardfehler (SEM) angegeben.

4. Ergebnisse

Die soziodemografischen Variablen sind in *Tabelle 1* aufgeführt. Es konnten keine signifikanten Unterschiede in den Baseline-Werten zwischen der anodalen und der kathodalen Stimulation beobachtet werden (siehe *Tabelle 2*). Um eine Veränderung der Baseline Erregbarkeit bei den Probanden während der Baseline zu untersuchen, wurden die ersten 20 MEP mit den letzten 20 MEP der Baseline Messung verglichen. Diese Analyse zeigte keine signifikanten Unterschiede sowohl für die anodalen ($t_{(58)} = 0,502$, $p = 0,618$) als auch für die kathodalen ($t_{(58)} = 1,483$, $p = 0,143$) Versuche.

Tabelle 1: Soziodemographische Variablen

Variable	Häufigkeit
Geschlecht (weiblich: männlich)	31 : 28
Händigkeit (rechts: nicht rechts)	54 : 5
Raucher (nein: ja)	46 : 13
	Mittelwert
Alter	27,59 ± 7,72
Ausbildungsjahre	17,07 ± 2,96
Körpergewicht (kg)	71,38 ± 17,68
Körpergröße (cm)	174,20 ± 9,45
Body mass index (kg/m ²)	23,36 ± 4,98

Tabelle 2: Baseline-Werte vor anodaler und kathodaler Stimulation

	Anodal	Kathodal	df	t-Wert	p-Wert
RMT [%]	34,98 ± 7,00	34,27 ± 7,31	58	1,432	0,158
S1mV [%]	42,20 ± 9,14	41,83 ± 9,90	58	0,612	0,543
Baseline MEP [mV]	1,17 ± 0,34	1,16 ± 0,30	58	0,113	0,910

RMT: motorische Ruheschwelle, S1mV: Intensität zum Auslösen eines MEPs mit einer Größe von ~ 1mV, MEP: Motorisch-evoziertes Potential, df = degrees of freedom

4.1 Gesamteffekte der tDCS

Die RM-ANOVA zeigte einen signifikanten Effekt von „tDCS“ ($F_{(1; 58)} = 5,004$; $p = 0,029$) und der „Zeit“ ($F_{(4,4; 255,2)} = 2,720$; $p = 0,026$), aber keine Interaktion zwischen „tDCS und Zeit“ ($F_{(4,7; 272,9)} = 1,432$; $p = 0,216$) (siehe Abbildung 8). Für die anodale tDCS zeigte die einfaktorielle ANOVA einen signifikanten Effekt von Zeit ($F_{(4,4; 253,1)} = 2,607$; $p = 0,032$), jedoch nicht bei der kathodalen tDCS ($F_{(4,3; 251,9)} = 1,114$; $p = 0,352$). Diese Ergebnisse deuten auf eine allgemein fazilitatorische Wirkung der anodalen tDCS in der Gesamtgruppe, aber keine signifikanten Veränderungen der Erregbarkeit nach der kathodalen tDCS hin. Die LSD Tests wiesen einen signifikanten Anstieg der MEP nach anodaler tDCS auf. Verglichen wurden die Baseline MEP mit den post tDCS MEP zu allen Zeitpunkten (alle $p \leq 0,049$, siehe *Tabelle 4*). Wegen der fehlenden Signifikanz in der einfaktoriellen ANOVA wurden für die kathodale tDCS keine post-hoc LSD Tests durchgeführt. Sowohl für die anodale als auch für die kathodale tDCS zeigte die RM-ANOVA für die I/O Kurven einen signifikanten Effekt von der „Intensität“ ($F_{(1,35; 71,46)} = 96,848$; $p < 0,001$ / $F_{(1,19; 67,62)} = 120,228$; $p < 0,001$), aber keinen signifikanten Effekt von „Zeit“ ($F_{(1, 53)} = 0,117$; $p = 0,733$ / $F_{(1, 57)} = 0,702$; $p = 0,405$) und keine Interaktion zwischen Intensität und Zeit ($F_{(1,71; 90,57)} = 2,139$; $p = 0,131$) / ($F_{(1,31; 74,74)} = 0,702$; $p = 0,442$).

Da insgesamt 4 Untersucher die Experimente durchgeführt haben, wurde die initiale RM-ANOVA um den Zwischensubjekt-Faktor „Untersucher“ ($F_{(3; 55)} = 0,599$, $p = 0,618$) erweitert und es zeigten sich weiterhin signifikante Effekte für „tDCS“ ($F_{(1, 55)} = 4,612$, $p = 0,036$) und „Zeit“ ($F_{(4,3; 238,7)} = 2,462$, $p = 0,041$), und keine Interaktion „tDCS x Zeit“ ($F_{(4,4; 252,2)} = 2,462$, $p = 0,329$). Es zeigten sich jedoch keine Interaktion „Untersucher x tDCS“ ($F_{(3; 55)} = 0,879$, $p = 0,457$), keine Interaktion „Untersucher x Zeit“ ($F_{(13,0; 238,7)} = 0,393$, $p = 0,5971$) und keine Interaktion „Untersucher x tDCS x Zeit“ ($F_{(13,8; 252,2)} = 0,869$, $p = 0,592$).

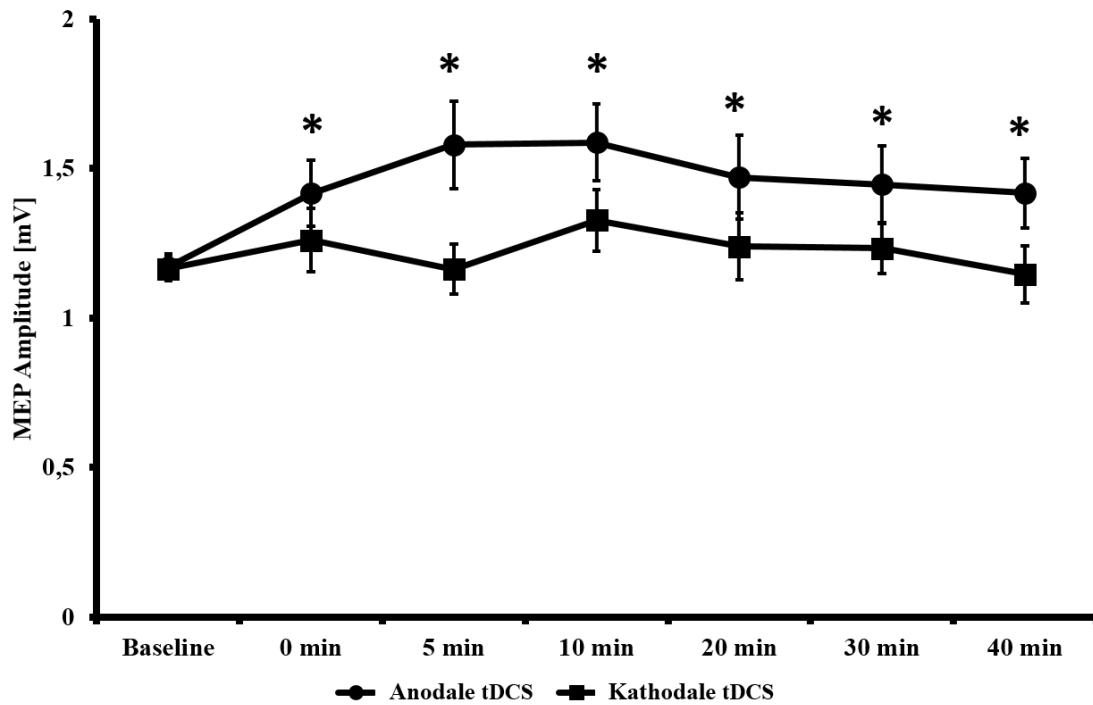


Abbildung 8: MEP-Amplituden (mV) nach anodaler und kathodaler Stimulation (0-40 Minuten), * geben einen signifikanten Effekt in den post-hoc Tests (siehe Tabelle 4) an. Fehlerbalken stellen den Standardfehler des Mittelwerts dar

Tabelle 3: Mittelwerte für die MEPs für das anodale und das kathodale tDCS Experiment

	Anodale tDCS		Kathodale tDCS	
	Mittelwert [mV]	SD [mV]	Mittelwert [mV]	SD [mV]
Baseline	1,17	0,34	1,16	0,30
0 min	1,42	0,85	1,26	0,82
5 min	1,58	1,12	1,16	0,64
10 min	1,59	0,98	1,33	0,80
20 min	1,47	1,08	1,24	0,86
30 min	1,45	1,00	1,23	0,65
40 min	1,42	0,89	1,15	0,73

SD = Standardabweichung (standard deviation)

Tabelle 4: LSD Kontraste für das anodale tDCS Experiment. Wegen der fehlenden Signifikanz in der einfaktoriellen ANOVA wurden für die kathodale tDCS keine post-hoc LSD Tests durchgeführt.

Anodale tDCS		
	Mittlerer Unterschied	p-Wert
Baseline vs 0 min	0,247	0,036
Baseline vs 5 min	0,409	0,007
Baseline vs 10 min	0,418	0,010
Baseline vs 20 min	0,301	0,034
Baseline vs 30 min	0,277	0,030
Baseline vs 40 min	0,248	0,049

4.2 Clusteranalyse

Das agglomerative hierarchische Clustering wurde verwendet, um möglichst homogene Subgruppen in den Gesamtproben zu ermitteln. Dabei zeigten sich zwei Cluster für die anodale tDCS (Cluster 1: n=35; Cluster 2: n=24) und zwei Cluster für die kathodale tDCS (Cluster 1: n=30; Cluster 2: n=29) (siehe Abbildung 9). Außer einem geringfügigen Unterschied in den Ausbildungsjahren zwischen den Clustern bei der kathodalen tDCS, konnten keine signifikanten soziodemografischen Unterschiede oder Unterschiede in der Baseline Erregbarkeit in den Clustern bei der anodalen und kathodalen tDCS festgestellt werden (siehe *Tabelle 5*). Für die anodale tDCS zeigte eine gemischt-faktorielle RM-ANOVA einen signifikanten Effekt von Zeit ($F_{(4,18; 238,11)} = 4,724$; $p = 0,001$) und Cluster ($F_{(1; 57)} = 66,226$; $p < 0,0001$) und eine signifikante Interaktion zwischen Zeit und Cluster ($F_{(4,18; 238,11)} = 8,356$; $p < 0,0001$). Bei der kathodalen tDCS hingegen konnte kein signifikanter Effekt von Zeit ($F_{(4,20; 239,49)} = 1,275$; $p = 0,279$), jedoch ein signifikanter Effekt von Cluster ($F_{(1; 57)} = 68,897$; $p < 0,0001$) und eine signifikante Interaktion von Zeit und Cluster ($F_{(4,20; 239,49)} = 6,699$; $p < 0,0001$) beobachtet werden. Die einfaktorielle ANOVA für den anodalen Cluster 1 zeigte einen signifikanten Effekt der Zeit ($F_{(6; 204)} = 2,263$; $p = 0,039$) und die post-hoc LSD-Tests zeigten eine signifikante Abnahme der MEP Amplituden nach 30 und 40 Minuten im Vergleich zur Baseline ($p = 0,011$; $p = 0,024$), jedoch ergaben sich keine Unterschiede auf die anderen Zeitpunkte nach der Stimulation (siehe *Tabellen 6 und 7*). Für das anodale Cluster 2 konnte ein signifikanter Effekt der Zeit ($F_{(3,53; 81,16)} = 5,439$; $p = 0,001$) beobachtet werden, wobei die post-hoc LSD-Tests eine signifikante MEP Erhöhung zu allen Zeitpunkten nach der Stimulation (siehe *Tabellen 6 und 7*) aufwiesen.

Die einfaktorielle ANOVA für den kathodalen Cluster 1 zeigte einen signifikanten Effekt der Zeit ($F_{(6; 174)} = 8,306$; $p < 0,0001$) und die post-hoc LSD Tests eine signifikante MEP Abnahme zu allen Zeitpunkten nach der Stimulation (siehe *Tabellen 8 und 9*). Bei dem kathodalen Cluster 2 konnte ein signifikanter Effekt der Zeit ($F_{(3,86; 108,11)} = 3,172$; $p = 0,018$) und in dem post-hoc-LSD Test eine signifikante MEP Erhöhung für alle Poststimulationzeitpunkte (siehe *Tabellen 8 und 9*) beobachtet werden.

Tabelle 5: Baseline Werte und soziodemografische Variablen

	Cluster 1	Cluster 2	df	Chi ² -Wert/ t-Wert	p- Wert
Anodale tDCS					
Demografie					
Geschlecht (weiblich: männlich)	16: 19	15: 9	1	1,609	0,205
Händigkeit (rechts: nicht rechts)	31: 4	23: 1	1	0,968	0,325
Raucher (nein: ja)	28: 7	18: 6	1	0,649	0,649
Alter	27,83 ± 8,42	27,25 ± 6,73	57	0,280	0,780
Ausbildungsjahre	17,29 ± 3,13	16,75 ± 2,73	57	0,680	0,499
Körpergewicht (kg)	70,01 ± 16,17	73,38 ± 19,86	57	0,716	0,477
Körpergröße (cm)	172,97 ± 8,71	176,00 ± 10,36	57	1,214	0,230
Body mass index (kg/m ²)	23,29 ± 4,59	23,48 ± 5,60	57	0,145	0,885
Physiologie					
RMT [%]	34,80 ± 7,49	35,25 ± 6,38	57	0,680	0,811
S1mV [%]	41,89 ± 9,82	42,67 ± 8,22	57	0,320	0,750
Baseline MEP [mV]	1,13 ± 0,34	1,23 ± 0,35	57	1,112	0,271
Kathodale tDCS					
Geschlecht (weiblich: männlich)	15: 15	16 :13	1	0,158	0,691
Händigkeit (rechts: nicht rechts)	26: 4	28: 1	1	1,858	0,173
Raucher (nein: ja)	23: 7	23: 6	1	0,060	0,807
Alter	26,40 ± 7,16	28,83 ± 8,21	57	1,212	0,231
Ausbildungsjahre	16,32 ± 2,23	17,84 ± 3,43	57	2,036	0,046 *
Körpergewicht (kg)	72,47 ± 18,21	70,24 ± 17,37	57	0,482	0,632
Körpergröße (cm)	174,20 ± 9,03	174,21 ± 10,02	57	0,003	0,998
Body mass index (kg/m ²)	23,80 ± 5,36	22,91 ± 4,60	57	0,681	0,499
Physiologie					
RMT [%]	35,20 ± 8,40	33,31 ± 5,98	52,44	0,998	0,323
S1mV [%]	42,80 ± 11,49	40,83 ± 8,02	57	0,762	0,449
Baseline MEP [mV]	1,10 ± 0,24	1,23 ± 0,34	49,43	1,730	0,090

RMT: motorische Ruheschwelle, S1mV: Intensität zum Auslösen eines MEPs mit einer Größe von ~ 1mV, MEP: Motorisch-evoziertes Potential, df = degrees of freedom

Tabelle 6: Mittelwerte für die MEPs der Cluster des anodalen tDCS Experiments

	Anodal Cluster 1 (N = 35)		Anodal Cluster 2 (N = 24)	
	Mittelwert [mV]	SD [mV]	Mittelwert [mV]	SD [mV]
Baseline	1,13	0,34	1,23	0,35
0 min	1,14	0,63	1,82	0,98
5 min	1,00	0,52	2,43	1,23
10 min	1,07	0,46	2,34	1,07
20 min	1,00	0,51	2,16	1,32
30 min	0,89	0,43	2,26	1,05
40 min	0,92	0,43	2,15	0,89

SD = Standardabweichung (standard deviation)

Tabelle 7: LSD Kontraste für die Cluster des anodalen tDCS Experiments

	Anodal Cluster 1 (N = 35)		Anodal Cluster 2 (N = 24)	
	Mittlerer Unterschied	p-Wert	Mittlerer Unterschied	p-Wert
Baseline vs 0 min	0,011	0,922	0,592	0,013
Baseline vs 5 min	0,133	0,185	1,200	< 0,001
Baseline vs 10 min	0,054	0,525	1,106	< 0,001
Baseline vs 20 min	0,129	0,223	0,930	0,001
Baseline vs 30 min	0,237	0,011	1,026	< 0,001
Baseline vs 40 min	0,211	0,024	0,919	< 0,001

Tabelle 8: Mittelwerte für die MEPs der Cluster des kathodalen tDCS Experiments

	Kathodal Cluster 1 (N = 30)		Kathodal Cluster 2 (N = 29)	
	Mittelwert [mV]	SD [mV]	Mittelwert [mV]	SD [mV]
Baseline	1,10	0,24	1,23	0,34
0 min	0,80	0,29	1,73	0,92
5 min	0,73	0,30	1,61	0,60
10 min	0,81	0,29	1,86	0,80
20 min	0,79	0,39	1,71	0,96
30 min	0,79	0,35	1,69	0,57
40 min	0,71	0,29	1,60	0,78

Tabelle 9: LSD Kontraste für die Cluster des kathodalen tDCS Experiments

	Kathodal Cluster 1 (N = 30)		Kathodal Cluster 2 (N = 29)	
	Mittlerer Unterschied	p-Wert	Mittlerer Unterschied	p-Wert
Baseline vs 0 min	0,295	< 0,001	0,501	0,006
Baseline vs 5 min	0,365	< 0,001	0,375	0,005
Baseline vs 10 min	0,287	< 0,001	0,628	< 0,001
Baseline vs 20 min	0,311	< 0,001	0,475	0,007
Baseline vs 30 min	0,311	< 0,001	0,461	< 0,001
Baseline vs 40 min	0,387	< 0,001	0,364	0,018

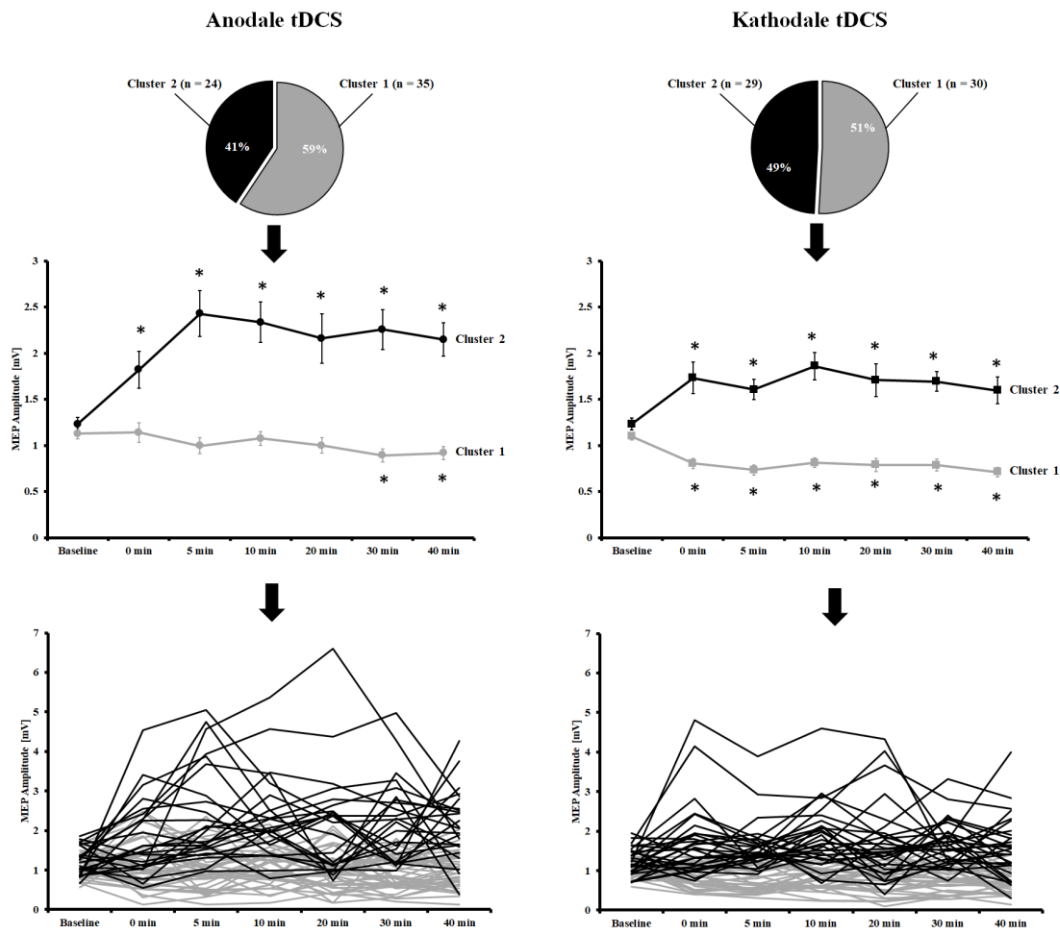


Abbildung 9: Clustergruppen nach anodaler und kathodaler Stimulation, * geben signifikante Effekte in den LSD Tests an (siehe Tabelle 7 für anodale tDCS und Tabelle 9 für kathodale tDCS). Fehlerbalken stellen den Standardfehler des Mittelwerts dar

4.3 I/O-Kurven nach dem Clustering

Für die anodale tDCS zeigten die gemischt-faktorielle RM ANOVA für die I/O-Kurven eine signifikante Wirkung der Intensität ($F_{(1,38; 71,84)} = 118,585$; $p < 0,0001$), der Cluster ($F_{(1; 52)} = 13,073$; $p = 0,001$) und eine signifikante Interaktion zwischen der Intensität und der Cluster ($F_{(1,38; 71,84)} = 8,406$; $p = 0,002$), jedoch keine weiteren Effekte oder Wechselwirkungen (alle $p \geq 0,101$) (siehe Abbildungen 10 und 11).

Zu Beginn der Messung und nach anodaler tDCS wurden bei dem Cluster 2 im Vergleich zu Cluster 1 höhere MEP Amplituden bei 110% RMT ($t_{(37,99)} = 2,704$, $p = 0,010$; $t_{(28,06)} = 3,005$, $p = 0,006$) und 130% RMT ($t_{(53)} = 3,354$, $p = 0,001$; $t_{(28,67)} = 2,582$, $p = 0,015$) gemessen, aber nicht bei 90% RMT ($t_{(57)} = 0,329$, $p = 0,743$; $t_{(56)} = 1,208$, $p = 0,232$).

Innerhalb der Cluster konnten keine Unterschiede zwischen den Baseline und post-tDCS Messungen der I/O-Kurven festgestellt werden (alle $p \geq 0,109$).

Für die kathodale tDCS zeigte die gemischt-faktorielle RM ANOVA für die I/O-Kurven eine signifikante Wirkung der Intensität ($F_{(1,21; 67,95)} = 140,021$; $p < 0,0001$), der Cluster ($F_{(1; 56)} = 12,265$; $p = 0,001$), der Interaktion zwischen Intensität und Cluster ($F_{(1,21; 67,95)} = 9,228$; $p = 0,002$), der Interaktion zwischen Cluster und der Zeit ($F_{(1; 56)} = 5,542$; $p = 0,022$) und einen Trend für die Interaktion zwischen der Intensität, der Zeit und der Cluster ($F_{(1,33; 74,50)} = 3,496$; $p = 0,053$), jedoch keine weiteren wesentlichen Auswirkungen oder Wechselwirkungen (all $p \geq 0,345$).

Zum Zeitpunkt Baseline und nach kathodaler tDCS wies Cluster 2 im Vergleich zu Cluster 1 höhere MEP Werte bei 110% RMT ($t_{(57)} = 2,338$, $p = 0,023$; $t_{(48,53)} = 2,723$, $p = 0,009$) und 130% RMT ($t_{(56)} = 2,208$, $p = 0,031$; $t_{(56)} = 3,847$ $p < 0,001$) auf, aber nicht bei einer Intensität von 90% RMT ($t_{(57)} = 0,179$, $p = 0,858$; $t_{(57)} = 1,486$, $p = 0,143$).

Innerhalb der Cluster konnten bis auf einen Trend für den Vergleich der MEP-Amplituden bei 130% RMT des kathodalen Clusters 2 ($p = 0,056$) keine signifikanten Unterschiede zwischen den Werten einer Intensität bei Baseline im Vergleich zu dem korrespondierenden post tDCS Wert gefunden werden (alle $p \geq 0,134$).

Anodale tDCS

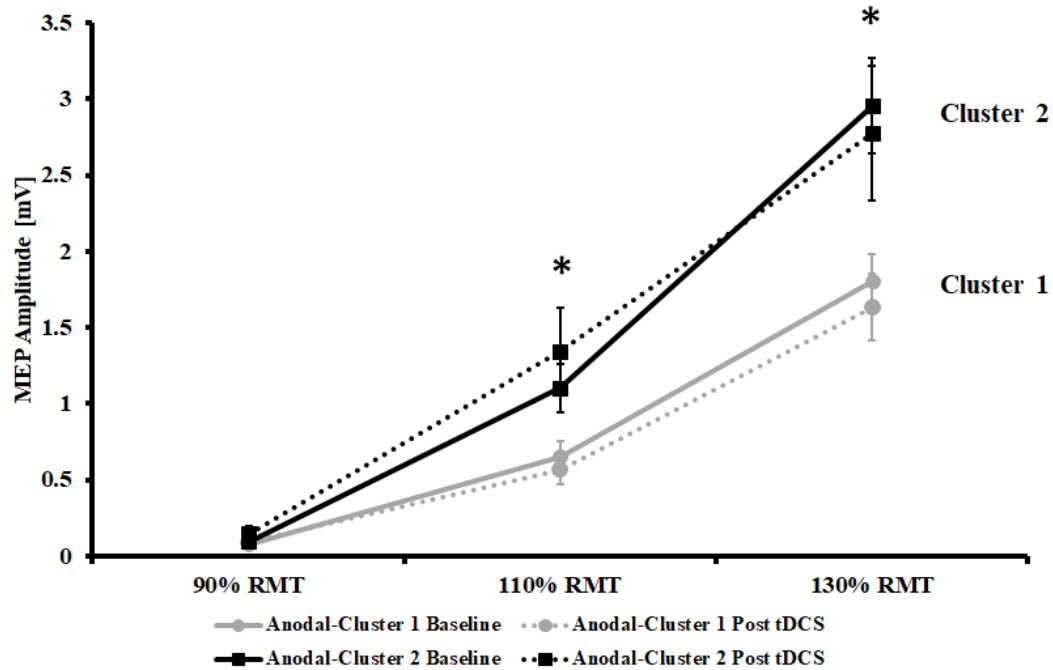


Abbildung 10: I/O-Kurven nach Clustering nach anodaler tDCS. * geben signifikante Effekte aus den ungepaarten t-Test an (siehe Text), Fehlerbalken stellen den Standardfehler des Mittelwerts dar

Kathodale tDCS

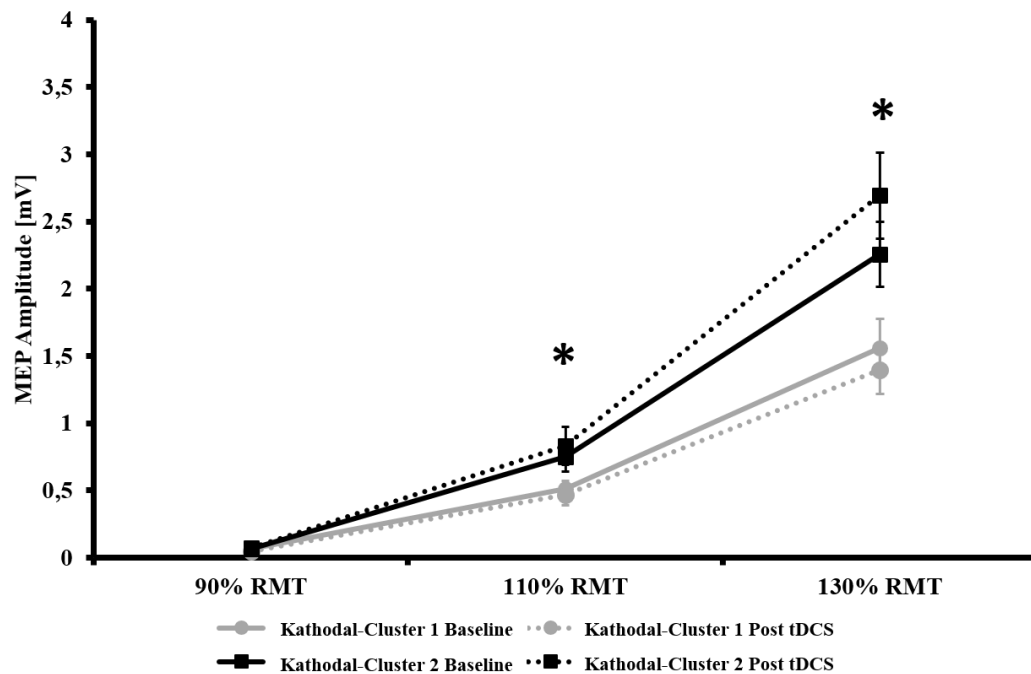


Abbildung 11: I/O-Kurven nach Clustering nach kathodaler tDCS, * geben signifikante Effekte aus den ungepaarten t-Test an (siehe Text), Fehlerbalken stellen den Standardfehler des Mittelwerts dar

4.4 Responder Analyse

Nach den Responder-Definitionen aus früheren Arbeiten auf der Grundlage der GA (grand average) normiert auf die Baseline (M. Hamada et al., 2013; Wiethoff et al., 2014) gab es in meiner Arbeit 61% Responder und 39% Non-Responder bei der anodalen tDCS und 53% Responder und 47% Non-Responder bei der kathodalen tDCS (siehe Abbildung 12).

In der anodalen tDCS Gruppe waren 23 von 24 Probanden aus Cluster 2 auch GA-Responder, während 1 Proband aus Clustergruppe 2 ein GA Non-Responder war. 13 von 35 Cluster 1 Probanden waren GA Responder und die verbleibenden 22 waren GA Non-Responder. Bei der kathodalen tDCS Gruppe waren 26 von 30 Cluster 1 Mitgliedern auch Responder und 4 GA-Non-Responder. 24 von Cluster 2 Probanden waren GA-Non-Responder und die restlichen 5 Cluster 2 Mitglieder waren GA-Responder. Der anschließende deskriptive Vergleich des Antwortverhaltens nach der GA- und Clustering-Methode zeigte eine größere Überlappung der beiden Methoden bei der kathodalen Gruppe im Vergleich zu der anodalen Gruppe (siehe *Abbildung 5*). Ich betrachtete anschließend die Überlappung der beiden angewendeten Klassifikationsmethoden, um die Probanden zu ermitteln, die in unterschiedliche Gruppen in Bezug auf das Antwortverhalten unterteilt worden sind. Bei der kathodalen tDCS wurden 85% der Probanden mit beiden Methoden auf die gleiche Weise klassifiziert, bei der anodalen tDCS waren es 76%. Eine Gruppe von 13 Probanden (22%) wurde als anodale GA-Responder, aber Clustering Non-Responder (Cluster 1) eingestuft. Von diesen Probanden wurde der MEP-Verlauf analysiert und zeigte bei der einfaktoriellen ANOVA einen signifikanten Effekt der Zeit ($F_{(6; 72)} = 3,244$; $p = 0,007$) und einen MEP-Anstieg nach 0, 5, 10 und 40 Minuten ($p = 0,002$ bis $0,023$, alle anderen $p \geq 0,158$) bei den post-hoc-LSD-Test (siehe *Abbildung 14*).

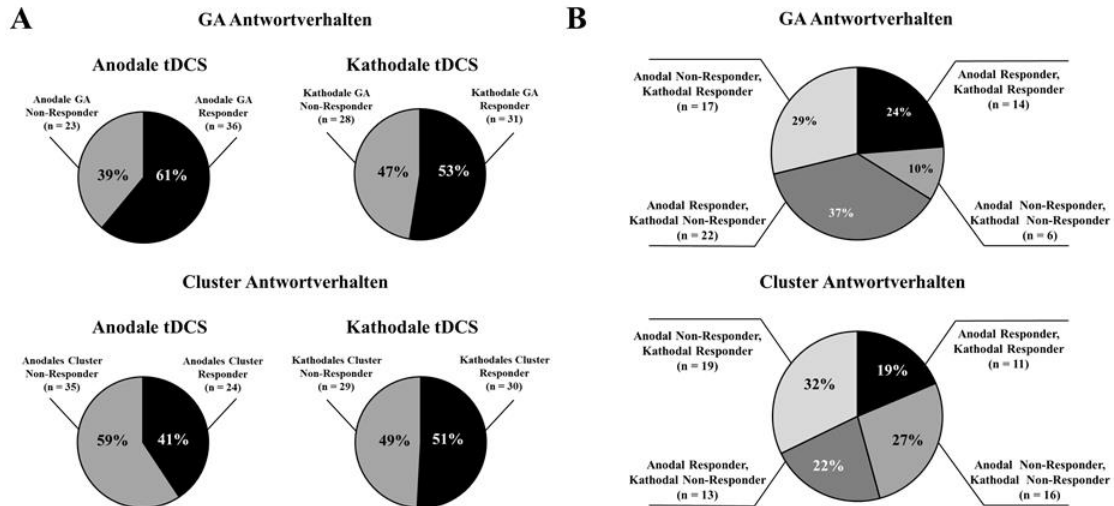


Abbildung 12: Responder und Non-Responder nach der GA-Methode und Clustering-Methode

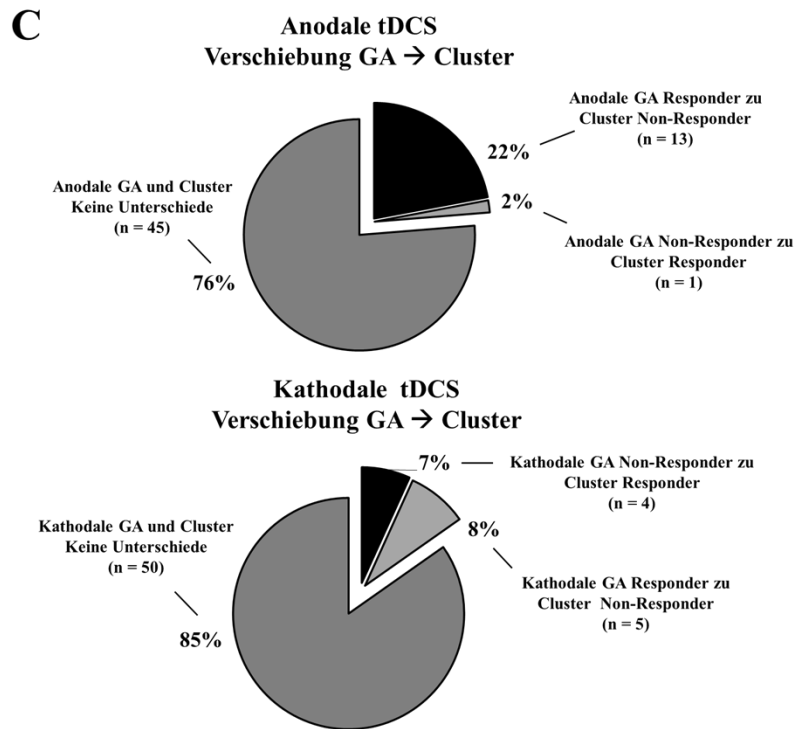


Abbildung 13: Anodale und kathodale tDCS nach GA-Clustering shift

Anodale tDCS

13 Probanden, klassifiziert als Cluster Non-Responder

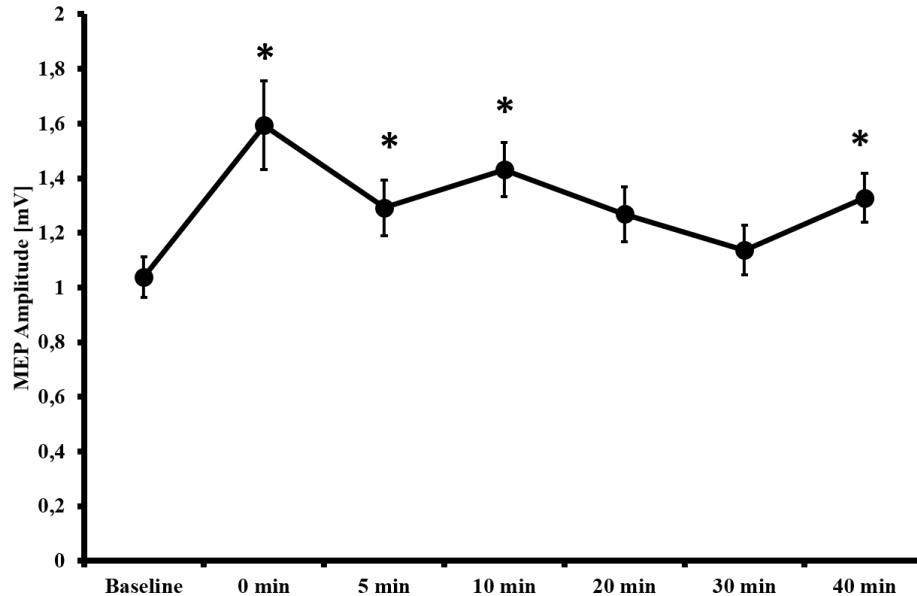


Abbildung 14: Gruppe anodaler GA-Responder, aber Clustering Non-Responder, * signifikante Effekte in den post-hoc LSD Tests (siehe Text). Fehlerbalken stellen den Standardfehler des Mittelwerts dar

4.5 Korrelationsanalysen

Schließlich betrachtete ich die Korrelation zwischen den verschiedenen Baseline-Variablen (RMT, S1mV, MEP, RECR90%, RECR110%, RECR130%) mit den gemittelten MEP-Werten nach der anodalen und kathodalen tDCS. Unter Verwendung einer Signifikanzschwelle von 0,0083 (für 6 Vergleiche) korrelierten nur die Baseline RECR110%-Werte ($p < 0,001$, $r = 0,498$) und die Baseline RECR130%-Werte ($p < 0,001$, $r = 0,539$) mit den gemittelten MEP-Werten nach anodaler tDCS (alle anderen $p \geq 0,076$). Bei der kathodalen tDCS korrelierten die Baseline RECR110%-Werte ($p < 0,001$, $r = 0,476$) und die Baseline RECR130%-Werte ($p = 0,004$, $r = 0,370$) signifikant mit den gemittelten MEP-Werten nach kathodaler tDCS. Die Baseline MEPs zeigten eine Korrelation mit den gemittelten post MEPs ($p = 0,0085$, $r = 0,339$), aber diese Korrelation wäre nach Korrektur mit dem Faktor 6 nicht mehr signifikant. Alle anderen Korrelationen waren nicht signifikant (Alle $p \geq 0,060$).

5. Diskussion

Das Ziel dieser Arbeit war es, die bereits in vorherigen Studien dargestellten Wirkungen der anodalen und kathodalen tDCS mittels TMS am menschlichen Motorkortex bei gesunden Probanden zu reproduzieren und dabei auch, die hohe Variabilität des Antwortverhaltens zwischen den einzelnen Probanden aufzuzeigen.

Die Ergebnisse meiner Arbeit liefern einen weiteren Beleg für eine hohe Variabilität im Antwortverhalten nach der Anwendung einer Methode der NIBS auf den motorischen Kortex des Menschen. Nach dem aktuellen Stand der Forschung, ist meine Arbeit die erste große tDCS Cross-Over-Studie, die den Effekt nach der Anwendung von einer 13-minütigen anodalen tDCS und einer 9-minütigen kathodalen tDCS mit einer Intensität von 1 mA auf den menschlichen Motorkortex untersucht. Diese Standardparameter hatten in vorhergegangenen Studien stabile und polaritätsspezifische Nachwirkungen auf die kortikospinale Erregbarkeit gezeigt (Dissanayaka, Zoghi, Farrell, Egan, & Jaberzadeh, 2017; Nitsche & Paulus, 2001, 2011), aber meine Ergebnisse zeigen, dass es relevante interindividuelle Unterschiede im Antwortverhalten gibt.

Die zu Anfang meiner Arbeit aufgestellte Hypothese, die anodale tDCS würde einen signifikanten Anstieg der kortikospinalen Erregbarkeit bewirken, konnte ich belegen. Dieser Anstieg konnte für die gesamte Nachstimulationsperiode von 40 Minuten beobachtet werden. Dieses steht auch im Einklang mit den Ergebnissen aus früheren tDCS-Studien (Dissanayaka et al., 2017; Liebetanz et al., 2002; Nitsche & Paulus, 2001). Entgegen meiner Erwartung, konnte jedoch bei der kathodalen tDCS keine signifikante Veränderung der kortikalen Erregbarkeit gemessen werden (Gesamtgruppenanalyse).

Im Gegensatz zu der Anzahl der Versuchspersonen anderer vergleichbarer Studien war die Zahl der Studienteilnehmer in meiner Arbeit groß. Die Probandenzahl lag in vorherigen Studien bei 10-53 (Nitsche & Paulus, 2000, 2001; Priori et al., 1998; Strube et al., 2015; Wiethoff et al., 2014), so dass unterschiedliche Befunde insbesondere im Vergleich zu der Vielzahl an kleinen Studien ($N < 20$) auch dadurch in Teilen zu erklären ist.

In folgenden Abschnitten werde ich die Ergebnisse dieser Arbeit mit den Ergebnissen bereits erfolgter Studien auf diesem Gebiet in Zusammenhang bringen und diskutieren.

5.1 Ergebnisdiskussion

Die Variabilität der lang anhaltenden Änderungen der motor-kortikalen Exzitabilität, die durch die NIBS induziert werden, ist schon seit langem ein wichtiges Diskussionsthema dieses Forschungsfeldes. Mit meiner Arbeit habe ich einen Beitrag dazu leisten können, indem ich die Variabilität im Antwortverhalten der postulierten tDCS Standardparameter untersucht habe. Diese führte ich unter der Berücksichtigung zahlreicher Publikationen über die Wirksamkeit und die Variabilität dieser Stimulationen, vor allem mit Hinblick auf die möglichen Determinanten, die diese beeinflussen könnten, durch (Hordacre et al., 2017; Wiethoff et al., 2014). Einige dieser Determinanten wie zum Beispiel die Genetik, das Geschlecht, das Alter, die anatomischen und physiologischen Faktoren der Probanden wurden in unterschiedlichen Studien als potentielle Aspekte bereits diskutiert (Masashi Hamada & Rothwell, 2016; Opitz et al., 2015). In meiner Arbeit habe ich die Probanden hinsichtlich ihrer soziodemografischen Variablen befragt und betrachtet (Geschlecht, Alter, Dauer der Ausbildung, Rauchverhalten, Körpergröße und -gewicht, Händigkeit). Die Frage nach der Auswirkung dieser möglichen Faktoren, die die Nachwirkungen auf den menschlichen Kortex einer nicht invasiven Hirnstimulation beeinflussen könnten, stand dabei im Vordergrund. Eine der führenden anderen Studien zu dem Thema der Variabilität im Antwortverhalten der tDCS wurde sicherlich von Wiethoff et al. durchgeführt. Dabei konnte unter Anwendung der anodalen und kathodalen tDCS über dem menschlichen Motorkortex bei 53 gesunden Probanden, vergleichbar mit meiner Arbeit (jedoch mit einer Intensität von 2 mA und einer Dauer von 10 Minuten, keine Standardparameter), die MEP-Amplituden nach der Stimulation erfasst werden. Es zeigte sich wie auch in meiner Arbeit, ein Anstieg der MEP-Amplituden bei etwa drei Viertel der Probanden, die mittels TMS nach der Stimulation erfasst werden konnten (Wiethoff et al., 2014). Eine signifikante Veränderung nach kathodaler tDCS blieb jedoch aus. Auch hier konnte eine sehr hohe Variabilität der Nacheffekte und deren Ausprägung beobachtet werden,

aber die Verwendung von Nicht-Standardparametern (v.a. Dauer und Intensität) erschweren die Interpretation dieser Ergebnisse.

5.1.1 Anodale transkranielle Gleichstromstimulation

Um die Wirksamkeit der anodalen Stimulation auf die kortikale Exzitabilität vergleichen zu können, habe ich die Änderungen der MEP-Amplituden vor und nach der Stimulation für beide Stimulationspolaritäten ermittelt und anschließend die Dynamik dieser Veränderungen mittels hierarchischer Cluster-Analysen bewertet. Dabei zeigte sich, dass die Anwendung der anodalen tDCS in der gesamten Gruppe einen signifikanten Anstieg der kortikalen Erregbarkeit, die für die gesamte Poststimulationszeit von 40 Minuten anhielt, bewirkte. Dies war anhand von Ergebnissen vorangegangener Studien zu erwarten (Dissanayaka et al., 2017; Liebetanz et al., 2002; Nitsche et al., 2003; Nitsche & Paulus, 2001, 2011). Zwei unterschiedliche Cluster zeigten sich bei der anodalen tDCS, wobei der erregende Cluster steilere Input-Output Kurven im Vergleich zu den hemmenden Clustern aufwies. Diese Beobachtungen bestätigen eine bidirektionale Modulation der kortikospinalen Exzitabilität nach 1 mA tDCS in getrennten Untergruppen und die Beziehung zur kortikalen Rekrutierung.

Bisher haben viele Studien gezeigt, dass eine signifikante interindividuelle Variabilität im Antwortverhalten nach einer NIBS beobachtet werden kann. So konnte bei einer Studie mit anodaler tDCS (1 mV, 13 Minuten) bei 56 gesunden Probanden keine Wirkung auf die kortikale Erregbarkeit nach der Stimulation beobachtet werden (Lopez-Alonso et al., 2014). Jedoch zeigte eine Studie mit 45 gesunden Probanden und den gleichen Stimulationsparametern wie in meiner Arbeit (1 mV, 13 Minuten) eine signifikante Erhöhung der kortikalen Erregung in den ersten 30 Minuten nach der anodalen tDCS (Lopez-Alonso, Fernandez-Del-Olmo, Costantini, Gonzalez-Henriquez, & Cheeran, 2015). Wiethoff et al. verwendeten andere Stimulationsparameter (2 mV, 10 Minuten) und beschrieben erneut eine signifikante Erhöhung der MEP-Amplituden nach der anodalen tDCS (Wiethoff et al., 2014). In meiner Arbeit habe ich die bidirektionale Variabilität der postulierten tDCS Standardparameter (1 mA anodale tDCS für 13 Minuten) untersucht und konnte einen Anstieg der MEP-Amplituden im Sinne einer Erhöhung der kortikalen Exzitabilität für die gesamte Nachstimulationsperiode

von 40 Minuten beobachten. Somit ist es mir gelungen, nach anodaler tDCS eine Erregbarkeitszunahme als Gruppeneffekt zu zeigen.

5.1.2 Kathodale transkranielle Gleichstromstimulation

Auch für die kathodale tDCS (1 mV, 9 Minuten) wurde durch vorherige Studien ein erwartetes Ergebnis definiert. Daher war meine Erwartung, nach kathodaler tDCS eine Abnahme der Erregung des Motorkortex erfassen zu können (Dissanayaka et al., 2017; Nitsche et al., 2008; Nitsche & Paulus, 2011). Entgegen dieser Erwartung konnten in meiner Arbeit keine Wirkung auf die kortikale Erregbarkeit nach der kathodalen tDCS (Gesamtgruppen-Analyse) beobachtet werden. Diese Ergebnisse überschneiden sich jedoch mit den Ergebnissen einer Studie von Wiethoff et al., in der sich bei 50% der untersuchten 53 gesunden Probanden nach kathodaler tDCS mit einer Intensität von 2 mV und einer Dauer von 10 Minuten nur ein geringer oder kein Effekt auf die kortikale Erregbarkeit zeigte (Wiethoff et al., 2014).

5.1.3 Responder und Non-Responder

Der prozentuelle Anteil von Respondern und Non-Respondern liegt in meiner Studie nach der GA Definition bei 61 % und 39 % bei der anodalen tDCS und 53% und 47% nach der kathodalen tDCS. Bei Wiethoff et al. (2014) lag dieser Anteil bei 75%/25% nach anodaler und 60%/40% nach kathodaler tDCS. Lopez-Alonso et al. (2014) berichteten über eine GA-Antwort von 50% nach anodaler Stimulation. Die Verteilung in meiner Arbeit steht nicht im Einklang mit den vorangegangenen Studien, die die gleichen Stimulationsparameter verwendeten. Das weist jedoch erneut darauf hin, dass die Ergebnisse einer hohen Variabilität nach NIBS unterliegen (M. Hamada et al., 2013; Lopez-Alonso et al., 2014; Muller-Dahlhaus et al., 2008). Die verwendete GA-Methode zur Beurteilung der Daten nach der Stimulation hat zwar den Vorteil der einfachen Anwendung, ignoriert jedoch die Dynamik in den poststimulativen Änderungen der kortikalen Erregbarkeit. Daher wurde in meiner Arbeit zusätzlich eine agglomerative hierarchische Cluster-Analyse der MEP Daten vor und nach der Stimulation durchgeführt. Zudem wurden die Rohdaten anstelle der normalisierten Daten eingesetzt, um die Variabilität und die Auswirkung der Baseline MEP zu berücksichtigen. Somit wurde der prozentuale Anteil an Probanden in einem

Cluster in dieser Arbeit, sowohl bei der anodalen als auch bei der kathodalen Stimulation, unter der Einbeziehung der hohen Variabilität der Nachwirkungen der Stimulationen ermittelt.

5.1.4 Cluster-Gruppen

Diese Analyse ergab zwei stabile Cluster für die anodale tDCS, die eine homogene Verteilung der Probanden vermuten lassen. Das erste Cluster aus dem anodalen tDCS Experiment zeigte im zeitlichen Verlauf eine Inhibition, die nach 30 und 40 Minuten signifikant war. Das zweite Cluster ergab einen steilen Anstieg der kortikalen Erregbarkeit in den ersten 10 Minuten nach der Stimulation, die auf einem fazilitierenden Level konstant blieb. Bei der kathodalen tDCS wurden zwei Cluster ermittelt. Das erste Cluster zeigte dabei eine signifikante Reduzierung der MEP-Amplitude, die über die gesamte Dauer nach der Stimulation anhielt und das zweite Cluster eine anhaltende MEP-Fazilitation. Der Vergleich der verwendeten Cluster mit den Clustern abgeleitet aus den two-step Cluster-Analysen anderer Studien mit gleichen Stimulationsparametern (Lopez-Alonso et al., 2014) zeigte ein ähnliches Muster für die Fazilitations- und Inhibitions-Cluster, jedoch nur eine Überlappung mit den Fazilitations-Cluster in der 2 mA Studie (Wiethoff et al., 2014). Die Studie von Wiethoff et al. (2014) zeigte für die kathodale tDCS ein fazilitierendes und ein neutrales Cluster mit keiner Änderung in der kortikalen Exzitabilität. In meiner Arbeit zeigt sich jedoch ein robustes Cluster mit verringerten MEP-Werten nach kathodaler tDCS mit 1 mA. Daher belegen die Ergebnisse meiner Arbeit zum ersten Mal das Vorhandensein einer konstanten Subgruppe mit bidirektionaler Modulation der kortikalen Erregbarkeit nach 1 mA tDCS unabhängig von der Stimulationspolarität basierend auf dem Clustering-Verfahren ohne eine a priori-Definition des Ergebnisses. Die Überlappung von Clusterzugehörigkeit und der GA-Antwortgruppe war für die kathodale tDCS relativ stabil. Für die anodale tDCS war dies jedoch nur für die Untergruppe der Fall, die eine Zunahme der kortikospinalen Erregbarkeit nach Stimulation zeigte. Daher vermute ich, dass die anodale Non-Responder Gruppe in zwei Untergruppen eingeteilt werden kann, eine neutrale Untergruppe und eine, die eine Abnahme der kortikalen Erregbarkeit zeigt. Weitere Analysen zeigen, dass für 85% der Probanden nach der kathodalen tDCS die Einstufung mit der GA-Methode oder einer

unabhängigen hypothesenfreien Clustering-Methode die gleiche ist. Das gilt nur für 75% der anodalen Daten.

Die post-hoc Analysen der 13 Probanden, die nach der anodalen tDCS GA-Responder, aber Clustering-Non-Responder waren, werfen die Frage auf, ob eine größere Probandengröße bei der anodalen tDCS zu einem dritten Cluster zwischen einem stark fazilitierenden und einem inhibierenden/neutralen führt. Wichtig ist, dass beide Cluster jeder Polarität sich nicht in den Baseline Eigenschaften der kortikalen Erregbarkeit (RMT, S1mV, Baseline MEP Größe) unterscheiden. Auch die Cluster, der zuvor ermittelten soziodemografischen Variablen wie Alter, Händigkeit, Jahre der Ausbildung, Rauchverhalten sowie Körpergröße und -gewicht der Probanden unterscheiden sich nicht.

Unabhängig von der Polarität der Stimulation zeigten die Probanden der fazilitierenden Cluster-Gruppe einen steileren Anstieg der I/O-Kurve vor und nach der Stimulation im Vergleich zu der inhibierenden Cluster-Gruppe. Die I/O-Kurve kann als Index für die globale kortikospinale Exzitabilität angesehen werden und reflektiert die Stärke der kortikospinalen Projektionen (Abbruzzese & Trompetto, 2002; Devanne et al., 1997). Der Anstieg der I/O-Kurve bei den fazilitierenden Cluster-Gruppen könnte dafür sprechen, dass Motoneurone dieser Gruppe eine höhere Feuerrate haben oder ein TMS-Impuls mehr Motoneurone rekrutiert (Devanne et al., 1997; Moller et al., 2009). Allerdings wurde die I/O-Kurve nur während des Anstiegs, jedoch nicht während des Plateaus untersucht, was methodisch eine Einschränkung ist (Moller et al., 2009). Daher ist die Beziehung zwischen der Steilheit der I/O-Kurve und der Wahrscheinlichkeit, eine fazilitierende Antwort nach einer tDCS zu entwickeln, in diesem Fall schwer zu beurteilen und erfordert weitere Arbeiten, um diesen Zusammenhang darzustellen. Wiethoff et al. (2014) konnten einen Zusammenhang zwischen kleinen Baseline MEP und der Wahrscheinlichkeit, eine fazilitierende Antwort zu entwickeln, beobachten. Für die anodale tDCS zeigte die Arbeit von Wiethoff et al eine Korrelation zwischen den Baseline MEPs und den gemittelten post-MEPs von $r^2 = 0,21$ ($p = 0,00059$) und für die kathodale tDCS von $r^2 = 0,18$ ($p = 0,00141$). Meine Arbeit hat jedoch einen entgegengesetzten Effekt gezeigt, wobei die Probanden mit den höheren Baseline MEP eine höhere Wahrscheinlichkeit aufwiesen, eine fazilitierende Antwort zu entwickeln. Die Korrelation zwischen den Baseline-MEPs und den gemittelten Post-MEPs bei der anodalen tDCS

beträgt $r^2=0,054$ ($p=0,07647$) und für die kathodale tDCS $r^2=0,115$ ($p=0,00847$). Allerdings unterscheiden sich die Baseline MEP zwischen den fasilitierenden und den inhibierenden Clustergruppen nicht signifikant und die zuvor berichteten Korrelationen sind nach Korrektur für multiple Vergleiche nicht mehr signifikant, so dass mein Befund als explorativ gewertet und in weiteren Arbeiten bestätigt werden muss. Eine kürzlich veröffentlichte Arbeit hat gezeigt, dass Probanden, die sensibler auf die TMS reagieren (durch niedrige S1mV), mit höherer Wahrscheinlichkeit eine fasilitierende Antwort auf die anodale tDCS entwickeln, dieser Zusammenhang galt jedoch nicht für die kathodale tDCS (Labruna et al., 2016). Es sind weitere Forschungsarbeiten notwendig, um den Zusammenhang zwischen den Baseline MEP-Amplituden und der Wahrscheinlichkeit, eine Antwort der kortikalen Plastizität in eine bestimmte Richtung auf eine anodale oder kathodale tDCS zu entwickeln, notwendig.

Die individuelle motorische Schwelle hängt dabei auch mit dem Abstand der Spule zum Kortex zusammen (Herbsman et al., 2009; McConnell et al., 2001). Zahlreiche Studien mit Anwendung der tDCS zeigen, dass die kortikale elektrische Felddichte eine Funktion der applizierten Stromstärke ist und zumindest teilweise von der Anatomie abhängt (Datta, Truong, Minhas, Parra, & Bikson, 2012; Opitz et al., 2015). Daher sind zwei weitere Erklärungen für die Variabilität im Antwortverhalten und die Cluster bei der tDCS möglich. Die erste Annahme bezieht sich auf die anatomischen und physiologischen Besonderheiten der einzelnen Probanden, die zu einer unwirksamen Stimulation führen könnten. Da jedoch für jedes Cluster eine signifikante Veränderung der kortikalen Erregbarkeit nach der Stimulation beobachtet werden konnte und auch andere Studien mit einer Stimulationsintensität $\leq 1\text{mA}$ eine Veränderung der Erregbarkeit beschrieben (Bastani & Jaberzadeh, 2013; Kidgell et al., 2013; Nitsche & Paulus, 2000; Vaseghi, Zoghi, & Jaberzadeh, 2015), ist diese Annahme eher unwahrscheinlich. Als zweites könnte man diskutieren, ob die interindividuellen Unterschiede in den anatomischen und physiologischen Besonderheiten zu nichtlinearen Effekten nach der Stimulation führen. So hat zum Beispiel die Anwendung von einer kathodalen 2 mA tDCS bei gesunden Probanden zu einer Zunahme statt einer Abnahme der kortikalen Erregbarkeit geführt (Batsikadze et al., 2013) und die Verwendung von kathodaler 1 mA bei Kindern (Alter ≤ 14 Jahre), die eine andere kortikale Anatomie haben als

Erwachsene, führte zu einer erhöhten Erregbarkeit (Moliadze et al., 2015). Nach der anodalen tDCS konnte sowohl in meiner Arbeit (mit 1 mA Intensität) als auch in zahlreichen anderen Studien, sowohl mit 1 mA als auch mit 2 mA Intensitäten, eine allgemeine Erhöhung der MEP-Amplituden beobachtet werden. So haben höhere oder niedrigere Intensitäten zu einer stabilen Erhöhung der kortikalen Erregbarkeit nach anodaler tDCS geführt (Bastani & Jaberzadeh, 2013; Batsikadze et al., 2013; Wiethoff et al., 2014). In einer Arbeit von Monte-Silva et al. zeigte sich auch bei der anodalen tDCS Cluster mit einer leichten Hemmung beobachtet werden. Zusätzlich konnte eine nicht-lineare Minderung der Erregbarkeit durch einen längeren anodalen Stromfluss (26 Minuten) (Monte-Silva et al., 2013) oder unter Einfluss von Medikamenten, die die intrazelluläre Kalziumkonzentration beeinflussen oder die NMDA-Rezeptoraktivität verändern (M. D. Lugo et al., 2015; Thirugnanasambandam, Grundey, Paulus, & Nitsche, 2011) erzielt werden. Unter diesen Bedingungen führte die Reduktion des Kalziumeinflusses zu einer Verminderung der entsprechenden Erregbarkeit oder zu einer Wiederherstellung der Erregbarkeitssteigerung (M. D. Lugo et al., 2015; Monte-Silva et al., 2013). Nach diesen Beobachtungen kann man annehmen, dass nach der anodalen tDCS ähnlich wie nach der kathodalen tDCS die Non-Responder Gruppe unterschiedliche Effekte im Vergleich zu der Responder Gruppe aufgrund der Kalzium-abhängigen Mechanismen aufweist. Allerdings erfordert diese Hypothese in Zukunft weitere gezielte Forschungsarbeiten.

5.1.5 Variabilität im Antwortverhalten

Diese Arbeit zeigt zum ersten Mal, dass die anodale und kathodale tDCS mit physiologischer Standardkonfiguration und Stimulationsparametern auch Gegenstand der interindividuellen Variabilität sind. Die Erkenntnisse dieser Arbeit werden durch die ausreichend große Probenmenge, ein natürliches Design und die Teilnahme von Personen, die mit der Methode nicht vertraut waren, verstärkt. Unerfahrene Studienteilnehmer reduzieren die Wahrscheinlichkeit, die Anzahl der Responder in der Studie positiv zu beeinflussen. Allerdings könnten unerfahrene Studienteilnehmer Schwierigkeiten haben, sich in der ungewohnten Situation zu entspannen und in den konstanten Zustand entspannter Wachheit zu kommen (Woods et al., 2016).

Wie in der Einleitung dargestellt, ermöglicht die Anwendung der Methoden der NIBS, die motor-kortikale Erregbarkeit nachhaltig zu verändern und damit das Verhalten reversibel zu beeinflussen (Ridding & Ziemann, 2010). Das Antwortverhalten auf die NIBS weist dabei eine hohe Variabilität auf (M. Hamada et al., 2013; Masashi Hamada & Rothwell, 2016; Lopez-Alonso et al., 2014; Opitz et al., 2015; Ridding & Ziemann, 2010; Strube et al., 2015). Dieses Antwortverhalten ist jedoch bis heute kaum vorhersehbar und es wird angenommen, dass bis zu 50% der Probanden nicht in der erwarteten Art und Weise auf die Stimulation reagieren (Masashi Hamada & Rothwell, 2016). Diese Variabilität im interindividuellen Antwortverhalten begrenzt jedoch den therapeutischen Nutzen dieser Methoden und stellt eine besondere Herausforderung für vergleichende Untersuchungen zwischen gesunden und neuropsychiatrisch erkrankten Probanden dar. Die Gründe für diese Variabilität sind multifaktoriell und nur ungenügend erforscht (Masashi Hamada & Rothwell, 2016; Ridding & Ziemann, 2010).

5.2 Methodendiskussion

5.2.1 Stimulationsparameter

Zu Beginn meiner Arbeit habe ich angenommen, dass die Anwendung von Standardparametern (1 mA, 9 - 13 Minuten) zu robusteren Effekten führen würde, da diese Standardkonfiguration teilweise weniger empfindlich gegenüber nichtlinearen intensitätsabhängigen Effekten ist (Batsikadze et al., 2013; Monte-Silva et al., 2013; Monte-Silva et al., 2010). Zudem habe ich auf der Grundlage der Beobachtungen aus anderen Großstudien vermutet, dass meine Ergebnisse auch einer signifikanten Inter-Subjekt-Variabilität unterliegen werden. Für die Aufrechterhaltung der Vergleichbarkeit zu früheren Publikationen (M. Hamada et al., 2013; Wiethoff et al., 2014) verwendete ich daher ein Zwei-Session-Cross-Over-Design mit einer verwandten Stichprobengröße und einem Nachwirkungsintervall.

5.2.2 Intensität und Dauer

Die in dieser Arbeit verwendeten Stimulationsparameter wurden auf Grundlage der bisher durchgeführten Studien mit tDCS ausgewählt.

Priori et al. (1998) konnten eine reduzierte neuronale Aktivität nach Stimulation mit schwachem anodalen Gleichstrom von $< 0,5$ mV über 7 Sekunden bei 15 gesunden Probanden beobachten. Nitsche und Paulus (2000) setzten in unterschiedlichen Teilversuchen an 10-19 gesunden Probanden die anodale und kathodale tDCS mit unterschiedlicher Intensität (0,2-1,0 mA) und unterschiedlicher Dauer (4 Sekunden, 1-5 Minuten) ein. In einer anschließenden Studie untersuchten sie die Nacheffekte der tDCS von 1 mA und einer Dauer von 9-13 Minuten (Nitsche & Paulus, 2001).

Nach den Erkenntnissen dieser Studien stimulierten wir die Probanden mit einer Intensität von 1 mA über 9 Minuten (kathodale tDCS) und 13 Minuten (anodale tDCS).

In einer Übersichtsarbeit von 2017 wurden 126 Studien, die zwischen 1990 und 2017 veröffentlicht wurden, aufgenommen und mittels RevMan-Software analysiert. Diese Studien behandelten u.a. die Auswirkungen verschiedener Parameter von anodaler tDCS und kathodaler tDCS auf die kortikospinale Exzitabilität des primären motorischen Kortex bei gesunden Probanden. Die Meta-Analyse zeigte, dass die anodale tDCS-Anwendung die kortikospinale Erregbarkeit signifikant erhöht und dass die Wirksamkeit der anodalen tDCS von der Stromdichte und der Dauer der Anwendung abhängt (Dissanayaka et al., 2017), was den Befunden meiner Arbeit entspricht. Zudem zeigte sich auch eine signifikante Reduktion der kortikospinalen Erregbarkeit nach kathodaler tDCS, was ich in meiner Arbeit nicht zeigen konnte.

6. Zusammenfassung

In meiner Arbeit habe ich die Wirksamkeit der anodalen und kathodalen tDCS auf die motor-kortikale Plastizität bei gesunden Probanden unter dem Gesichtspunkt der Variabilität im interindividuellen Antwortverhalten untersucht. Dieses ist vor allem wichtig, da bei einer großen Variabilität im Antwortverhalten, eine Prognose der Effektivität dieser nur eingeschränkt möglich ist. Um die Faktoren, die das Ergebnis einer tDCS beeinflussen können zu extrahieren und miteinander in Zusammenhang zu stellen, ist es wichtig, möglichst viele physiologische Faktoren bei einer Vielzahl von Probanden zu berücksichtigen.

So konnte ich in meiner Arbeit 59 gesunde Probanden einschließen (31 Frauen, 28 Männer), die die Einschlusskriterien vollständig erfüllten. Die Stimulationen fanden an zwei Tagen, die durchschnittlich 7,42 Tage auseinander lagen, statt, um einen möglichen Nacheffekt der vorherigen Sitzung zu vermeiden.

Die Abfolge der anodalen und kathodalen Sitzungen wurde zufällig bestimmt und war dem Probanden bis zum Abschluss der zwei Sitzungen nicht bekannt, um mögliche Erwartungseffekte auszuschließen. Alle Studienteilnehmer wurden jeweils mit einer anodalen tDCS von 1 mA Intensität und 13 Minuten Dauer und einer kathodalen tDCS von 1 mA Intensität und 9 Minuten Dauer stimuliert. Den Probanden war diese Methode zuvor unbekannt und wurde vor der ersten Sitzung ausführlich erläutert. Die Rahmenbedingungen (Räumlichkeit, Lichtintensität, Position, Elimination von Störfaktoren wie Gesprächen oder mobilen Geräten etc.) waren gleich. Die anodale Stimulation mit einer Intensität von 1 mA und einer Dauer von 13 Minuten zeigte sich eine signifikante Erhöhung der kortikalen Erregbarkeit im Vergleich zu den Werten vor der Stimulation im Sinne einer Erhöhung der MEP-Amplituden, die mittels TMS erfasst werden konnte. Somit konnte meine erste Hypothese belegt werden. Dieses Ergebnis steht auch im Einklang mit zahlreichen vorherigen Studien. Die kathodale tDCS zeigte jedoch entgegen meiner Erwartung keine signifikante Veränderung der kortikalen Erregbarkeit (Gesamtgruppenanalyse).

In Zusammenschau zeigte sich sowohl bei der anodalen als auch bei der kathodalen tDCS eine hohe Variabilität im Antwortverhalten der Studienteilnehmer, die auch in vorangegangenen Studien beobachtet werden konnte. Je nach Antwortverhalten lassen sich die Probanden in erregende oder

hemmende Subgruppen einordnen. Jedoch reicht eine Arbeit bei Weitem nicht aus, um eine klare Gruppeneinordnung zu geben, wonach man sich bei der Prognose und Festlegung der optimalen Stimulationsparameter richten kann. Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die Ergebnisse dieser Arbeit die bidirektionale Modulation der kortikospinalen Exzitabilität nach 1 mA tDCS in unterschiedlichen Subgruppen und den Zusammenhang mit kortikaler Rekrutierung bestätigen. Einen deutlichen Zusammenhang mit bestimmten individuellen Faktoren der Probanden und den Ergebnissen darzustellen, ist jedoch nicht gelungen.

Daher ist es von enormer Wichtigkeit, weitere Studien durchzuführen, um den Zusammenhang zwischen den Stimulationsparametern, den Rahmenbedingungen, den Probandengruppen und schlussendlich den Ergebnissen bzw. den Effekten der Stimulationen festlegen zu können.

Es ist die Herausforderung zukünftiger Studien, die Zusammenhänge zwischen den Faktoren und dem interindividuellen Antwortverhalten auf Grundlage der vorhergegangenen Studien und meiner Arbeit weiter zu untersuchen, um die Effekte von der tDCS besser vorhersagen und in Zukunft auch gezielter beeinflussen zu können. Dies ist eine wesentliche Voraussetzung zur Weiterentwicklung dieser Methoden als therapeutische Interventionen bei Depressionen oder der Schizophrenie, wo die Variabilität im klinischen Ansprechen im Moment ein relevantes Problem in der Anwendung darstellt.

7. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ANOVA	Analysis of variance
atDCS	Anodale transkranielle Gleichstromstimulation
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor
bzw.	Beziehungsweise
Ca ²⁺	Kalzium zweifach ionisiert
cAMP	Zyklisches Adenosinmonophosphat
cm	Zentimeter
CS	Konditionierender Stimulus
CSD	Cortical spreading depression
cTBS	Continuous theta burst stimulation
ctDCS	Kathodale transkranielle Gleichstromstimulation
df	Degrees of freedom
EEG	Elektroenzephalographie
EMG	Elektromyographie
EKT	Elektrokrampftherapie
EZ	Einwohnerzahl
FDI	First dorsal interosseous
GA	Grand average
GABA	Gamma-aminobutyric acid
h	Hour, Stunde
Hz	Hertz
ICF	Intracortical fascilitation
I/O-Kurve	Input-Output Kurve
IPSP	Inhibitorisches postsynaptisches Potential
iTBS	intermittent theta burst stimulation
kg	Kilogramm
kHZ	Kilohertz
LSD-Test	Least Significant Difference-Test
Ltd.	Limited
LTD	Long Term Depression, Langzeitdepression
LTP	Long Term Potentiation, Langzeitpotentierung

mA	Milliampere
MEP	Motorisch evoziertes Potential
Mg	Magnesium
min	Minute
mm	Millimeter
MRT	Magnetresonanztomographie
ms	Millisekunde
MT	Motorschwelle
mV	Millivolt
n	Anzahl
NaCl	Natriumchlorid
NIBS	Non-invasive brain stimulation
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
PAS	Paired-associative stimulation
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
RM-ANOVA	repeated measure ANOVA
RMT	Ruhemotorschwelle
rTMS	Repetitive transkranielle Magnetstimulation
SD	Standard deviation
sek	Sekunde
SICF	Short interval intracortical fascilitation
SICI	Short interval intracortical inhibition
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TBS	Theta Burst Stimulation
tDCS	Transcranial direct current stimulation
TMS	Transkranielle Magnetstimulation
TS	Teststimulus
UDP	Use-dependent plasticity
UK	United Kingdom

8. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Das Magnetfeld durchdringt die Schädeldecke und erzeugt einen elektrischen Stromfluss (Faraday'sches Gesetz). Schematische Darstellung. Entspricht nicht der Stimulation des Motorkortex des rechten Musculus interosseus dorsalis in meiner Arbeit, Abbildung entnommen und angepasst aus (Ridding & Rothwell, 2007)	22
Abbildung 2: Schematische Darstellung der praktischen Anwendung. Entspricht nicht der Stimulation des Motorkortexes des rechten Musculus interosseus dorsalis in meiner Arbeit.....	22
Abbildung 3: Oberflächenelektroden	32
Abbildung 4: Durchführung Oberflächen-EMG	32
Abbildung 5: tDCS-Gerät.....	35
Abbildung 6: Anodale tDCS.....	36
Abbildung 7: Kathodale tDCS.....	36
Abbildung 8: MEP-Amplituden (mV) nach anodaler und kathodaler Stimulation (0-40 Minuten), * geben einen signifikanten Effekt in den post-hoc Tests (siehe Tabelle 4) an. Fehlerbalken stellen den Standardfehler des Mittelwerts dar	42
Abbildung 9: Clustergruppen nach anodaler und kathodaler Stimulation, * geben signifikante Effekte in den LSD Tests an (siehe Tabelle 7 für anodale tDCS und Tabelle 9 für kathodale tDCS). Fehlerbalken stellen den Standardfehler des Mittelwerts dar.....	46
Abbildung 10: I/O-Kurven nach Clustering nach anodaler tDCS. Fehlerbalken stellen den Standardfehler des Mittelwerts dar	48
Abbildung 11: I/O-Kurven nach Clustering nach kathodaler tDCS, * geben signifikante Effekte aus den ungepaarten t-Test an (siehe Text). Fehlerbalken stellen den Standardfehler des Mittelwerts dar	48
Abbildung 12: Responder und Non-Responder nach der GA-Methode und Clustering-Methode	50
Abbildung 13: Anodale und kathodale tDCS nach GA-Clustering shift.....	50
Abbildung 14: Gruppe anodaler GA-Responder, aber Clustering Non-Responder, * signifikante Effekte in den post-hoc LSD Tests (siehe Text). Fehlerbalken stellen den Standardfehler des Mittelwerts dar	51

9. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Soziodemographische Variablen	40
Tabelle 2: Baseline-Werte vor anodaler und kathodaler Stimulation	40
Tabelle 3: Mittelwerte für die MEPs für das anodale und das kathodale tDCS Experiment	42
Tabelle 4: LSD Kontraste für das anodale tDCS Experiment. Wegen der fehlenden Signifikanz in der einfaktoriellen ANOVA wurden für die kathodale tDCS keine post-hoc LSD Tests durchgeführt.	42
Tabelle 5: Baseline Werte und soziodemografische Variablen	44
Tabelle 6: Mittelwerte für die MEPs der Cluster des anodalen tDCS Experiments	45
Tabelle 7: LSD Kontraste für die Cluster des anodalen tDCS Experiments	45
Tabelle 8: Mittelwerte für die MEPs der Cluster des kathodalen tDCS Experiments	45
Tabelle 9: LSD Kontraste für die Cluster des kathodalen tDCS Experiments ..	45

10. Danksagung

An dieser Stelle liegt es mir am Herzen, mich bei einigen Personen aufrichtig zu bedanken.

Bei Herrn Prof. Dr. med. Peter Falkei, dem Direktor der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie am Klinikum der Universität München der mir die Möglichkeit gegeben hat, diese Arbeit unter seiner Leitung durchzuführen.

Herrn PD Dr. med. Alkomiet Hasan danke ich besonders für die Themastellung, die herzliche und engagierte Betreuung und seine ständige Hilfsbereitschaft und unermüdliche Geduld. Auch für die mühevollen und sehr genauen Arbeit des Korrekturlesens möchte ich mich herzlich bedanken.

Besonderen Dank auch an die gesamte Arbeitsgruppe, vor allem Dr. med. Tilmann Bunse und Dr. med. Wolfgang Strube für die freundschaftliche Arbeitsatmosphäre, viele wertvolle Anregungen und die großzügige Hilfsbereitschaft, ohne die diese Arbeit nach meinem plötzlichen Schicksalsschlag nicht möglich gewesen wäre.

Meinen Eltern geht ein unendlicher Dank für die grenzenlose Liebe, die sie mir auf meinen Weg mitgegeben haben und die Opfer, die sie gebracht haben, um mir den Traum vom Medizinstudium ermöglichen zu können.

Der größte Dank geht an die Liebe meines Lebens.

11. Publikationen

Ergebnisse dieser Dissertation wurden im Jahre 2016 in der Fachzeitschrift Physiological Reports unter folgender Zitierung veröffentlicht:

Strube W, Bunse T, Nitsche MA, **Nikolaeva A**, Palm U, Padberg F, Falkai P, Hasan A (2016): Bidirectional variability in motor cortex excitability modulation following 1 mA transcranial direct current stimulation in healthy participants, Physiological Reports: 2016 Aug;4(15). pii: e1288

12. Literaturverzeichnis

- Abbruzzese, G., & Trompetto, C. (2002). Clinical and research methods for evaluating cortical excitability. *J Clin Neurophysiol*, 19(4), 307-321.
- Akaneya, Y., Tsumoto, T., Kinoshita, S., & Hatanaka, H. (1997). Brain-derived neurotrophic factor enhances long-term potentiation in rat visual cortex. *J Neurosci*, 17(17), 6707-6716.
- Bastani, A., & Jaberzadeh, S. (2013). Differential modulation of corticospinal excitability by different current densities of anodal transcranial direct current stimulation. *PLoS One*, 8(8), e72254. doi: 10.1371/journal.pone.0072254
- Batsikadze, G., Moliadze, V., Paulus, W., Kuo, M. F., & Nitsche, M. A. (2013). Partially non-linear stimulation intensity-dependent effects of direct current stimulation on motor cortex excitability in humans. *J Physiol*, 591(7), 1987-2000. doi: 10.1113/jphysiol.2012.249730
- Batsikadze, G., Paulus, W., Grundey, J., Kuo, M. F., & Nitsche, M. A. (2015). Effect of the Nicotinic alpha4beta2-receptor Partial Agonist Varenicline on Non-invasive Brain Stimulation-Induced Neuroplasticity in the Human Motor Cortex. *Cereb Cortex*, 25(9), 3249-3259. doi: 10.1093/cercor/bhu126
- Batsikadze, G., Paulus, W., Hasan, A., Grundey, J., Kuo, M. F., & Nitsche, M. A. (2017). Compromised neuroplasticity in cigarette smokers under nicotine withdrawal is restituted by the nicotinic alpha4beta2-receptor partial agonist varenicline. *Sci Rep*, 7(1), 1387. doi: 10.1038/s41598-017-01428-6
- Bikson, M., Inoue, M., Akiyama, H., Deans, J. K., Fox, J. E., Miyakawa, H., & Jefferys, J. G. (2004). Effects of uniform extracellular DC electric fields on excitability in rat hippocampal slices in vitro. *J Physiol*, 557(Pt 1), 175-190. doi: 10.1113/jphysiol.2003.055772
- Bindman, L. J., Lippold, O. C., & Redfearn, J. W. (1964). THE ACTION OF BRIEF POLARIZING CURRENTS ON THE CEREBRAL CORTEX OF THE RAT (1) DURING CURRENT FLOW AND (2) IN THE PRODUCTION OF LONG-LASTING AFTER-EFFECTS. *J Physiol*, 172, 369-382.
- Blakemore, S. J., Burnett, S., & Dahl, R. E. (2010). The role of puberty in the developing adolescent brain. *Hum Brain Mapp*, 31(6), 926-933. doi: 10.1002/hbm.21052
- Brunoni, A. R., Lopes, M., & Fregni, F. (2008). A systematic review and meta-analysis of clinical studies on major depression and BDNF levels: implications for the role of neuroplasticity in depression. *Int J Neuropsychopharmacol*, 11(8), 1169-1180. doi: 10.1017/s1461145708009309
- Carney, M. W. (1969). Negative polarisation of the brain in the treatment of manic states. *Ir J Med Sci*, 8(3), 133-135.
- Chao, C. C., Karabanov, A. N., Paine, R., Carolina de Campos, A., Kukke, S. N., Wu, T., . . . Hallett, M. (2015). Induction of motor associative plasticity in the posterior parietal cortex-primary motor network. *Cereb Cortex*, 25(2), 365-373. doi: 10.1093/cercor/bht230

- Cheeran, B., Talelli, P., Mori, F., Koch, G., Suppa, A., Edwards, M., . . . Rothwell, J. C. (2008). A common polymorphism in the brain-derived neurotrophic factor gene (BDNF) modulates human cortical plasticity and the response to rTMS. *J Physiol*, 586(Pt 23), 5717-5725. doi: 10.1113/jphysiol.2008.159905
- Chen, R., Classen, J., Gerloff, C., Celnik, P., Wassermann, E. M., Hallett, M., & Cohen, L. G. (1997). Depression of motor cortex excitability by low-frequency transcranial magnetic stimulation. *Neurology*, 48(5), 1398-1403.
- Cincotta, M., Borgheresi, A., Jung, P., Balestrieri, F., Giovannelli, F., Zaccara, G., & Ziemann, U. (2005). Physical interactions between induced electrical fields can have substantial effects on neuronal excitation during simultaneous TMS of two brain areas. *Clin Neurophysiol*, 116(7), 1733-1742. doi: 10.1016/j.clinph.2005.04.002
- Cooke, S. F., & Bliss, T. V. (2006). Plasticity in the human central nervous system. *Brain*, 129(Pt 7), 1659-1673. doi: 10.1093/brain/awl082
- Corti, M., Patten, C., & Triggs, W. (2012). Repetitive transcranial magnetic stimulation of motor cortex after stroke: a focused review. *Am J Phys Med Rehabil*, 91(3), 254-270. doi: 10.1097/PHM.0b013e318228bf0c
- Costain, R., Redfearn, J. W., & Lippold, O. C. (1964). A CONTROLLED TRIAL OF THE THERAPEUTIC EFFECT OF POLARIZATION OF THE BRAIN IN DEPRESSIVE ILLNESS. *Br J Psychiatry*, 110, 786-799.
- Creutzfeldt, O. D., Fromm, G. H., & Kapp, H. (1962). Influence of transcortical d-c currents on cortical neuronal activity. *Exp Neurol*, 5, 436-452.
- Datta, A., Truong, D., Minhas, P., Parra, L. C., & Bikson, M. (2012). Inter-Individual Variation during Transcranial Direct Current Stimulation and Normalization of Dose Using MRI-Derived Computational Models. *Front Psychiatry*, 3, 91. doi: 10.3389/fpsyt.2012.00091
- Davey, N. J., Smith, H. C., Savic, G., Maskill, D. W., Ellaway, P. H., & Frankel, H. L. (1999). Comparison of input-output patterns in the corticospinal system of normal subjects and incomplete spinal cord injured patients. *Exp Brain Res*, 127(4), 382-390.
- Dayan, E., Censor, N., Buch, E. R., Sandrini, M., & Cohen, L. G. (2013). Noninvasive brain stimulation: from physiology to network dynamics and back. *Nat Neurosci*, 16(7), 838-844. doi: 10.1038/nn.3422
- Devanne, H., Lavoie, B. A., & Capaday, C. (1997). Input-output properties and gain changes in the human corticospinal pathway. *Exp Brain Res*, 114(2), 329-338.
- Di Lazzaro, V., Oliviero, A., Profice, P., Saturno, E., Pilato, F., Insola, A., . . . Rothwell, J. C. (1998). Comparison of descending volleys evoked by transcranial magnetic and electric stimulation in conscious humans. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 109(5), 397-401.
- Di Lazzaro, V., Pilato, F., Oliviero, A., Dileone, M., Saturno, E., Mazzone, P., . . . Rothwell, J. C. (2006). Origin of facilitation of motor-evoked potentials after paired magnetic stimulation: direct recording of epidural activity in conscious humans. *J Neurophysiol*, 96(4), 1765-1771. doi: 10.1152/jn.00360.2006
- Di Lazzaro, V., & Rothwell, J. C. (2014). Corticospinal activity evoked and modulated by non-invasive stimulation of the intact human motor cortex. *J Physiol*, 592(Pt 19), 4115-4128. doi: 10.1113/jphysiol.2014.274316

- Dieckhofer, A., Waberski, T. D., Nitsche, M., Paulus, W., Buchner, H., & Gobbele, R. (2006). Transcranial direct current stimulation applied over the somatosensory cortex - differential effect on low and high frequency SEPs. *Clin Neurophysiol*, 117(10), 2221-2227. doi: 10.1016/j.clinph.2006.07.136
- Dingledine, R., Borges, K., Bowie, D., & Traynelis, S. F. (1999). The glutamate receptor ion channels. *Pharmacol Rev*, 51(1), 7-61.
- Dissanayaka, T., Zoghi, M., Farrell, M., Egan, G. F., & Jaberzadeh, S. (2017). Does transcranial electrical stimulation enhance corticospinal excitability of the motor cortex in healthy individuals? A systematic review and meta-analysis. *Eur J Neurosci*, 46(4), 1968-1990. doi: 10.1111/ejn.13640
- Falcone, B., Wada, A., Parasuraman, R., & Callan, D. E. (2018). Individual differences in learning correlate with modulation of brain activity induced by transcranial direct current stimulation. *PLoS One*, 13(5), e0197192. doi: 10.1371/journal.pone.0197192
- Fregni, F., Boggio, P. S., Nitsche, M., Bermpohl, F., Antal, A., Feredoes, E., . . . Pascual-Leone, A. (2005). Anodal transcranial direct current stimulation of prefrontal cortex enhances working memory. *Exp Brain Res*, 166(1), 23-30. doi: 10.1007/s00221-005-2334-6
- Fresnoza, S., Paulus, W., Nitsche, M. A., & Kuo, M. F. (2014). Nonlinear dose-dependent impact of D1 receptor activation on motor cortex plasticity in humans. *J Neurosci*, 34(7), 2744-2753. doi: 10.1523/jneurosci.3655-13.2014
- Fresnoza, S., Stiksrud, E., Klinker, F., Liebetanz, D., Paulus, W., Kuo, M. F., & Nitsche, M. A. (2014). Dosage-dependent effect of dopamine D2 receptor activation on motor cortex plasticity in humans. *J Neurosci*, 34(32), 10701-10709. doi: 10.1523/jneurosci.0832-14.2014
- Fritsch, B., Reis, J., Martinowich, K., Schambra, H. M., Ji, Y., Cohen, L. G., & Lu, B. (2010). Direct current stimulation promotes BDNF-dependent synaptic plasticity: potential implications for motor learning. *Neuron*, 66(2), 198-204. doi: 10.1016/j.neuron.2010.03.035
- Galea, L. A., Spritzer, M. D., Barker, J. M., & Pawluski, J. L. (2006). Gonadal hormone modulation of hippocampal neurogenesis in the adult. *Hippocampus*, 16(3), 225-232. doi: 10.1002/hipo.20154
- Gall, C., Lauterborn, J., Bundman, M., Murray, K., & Isackson, P. (1991). Seizures and the regulation of neurotrophic factor and neuropeptide gene expression in brain. *Epilepsy Res Suppl*, 4, 225-245.
- Gartside, I. B. (1968). Mechanisms of sustained increases of firing rate of neurones in the rat cerebral cortex after polarization: role of protein synthesis. *Nature*, 220(5165), 383-384.
- Ge, S., & Dani, J. A. (2005). Nicotinic Acetylcholine Receptors at Glutamate Synapses Facilitate Long-Term Depression or Potentiation. *The Journal of Neuroscience*, 25(26), 6084-6091. doi: 10.1523/jneurosci.0542-05.2005
- Grundey, J., Thirugnanasambandam, N., Kaminsky, K., Drees, A., Skwirba, A. C., Lang, N., . . . Nitsche, M. A. (2012). Neuroplasticity in cigarette smokers is altered under withdrawal and partially restituted by nicotine exposition. *J Neurosci*, 32(12), 4156-4162. doi: 10.1523/jneurosci.3660-11.2012

- Guerra, A., Lopez-Alonso, V., Cheeran, B., & Suppa, A. (2017). Variability in non-invasive brain stimulation studies: Reasons and results. *Neurosci Lett*. doi: 10.1016/j.neulet.2017.12.058
- Hamada, M., Murase, N., Hasan, A., Balaratnam, M., & Rothwell, J. C. (2013). The role of interneuron networks in driving human motor cortical plasticity. *Cereb Cortex*, 23(7), 1593-1605. doi: 10.1093/cercor/bhs147
- Hamada, M., & Rothwell, J. (2016). Neurophysiology of rTMS: Important Caveats When Interpreting the Results of Therapeutic Interventions. In T. Platz (Ed.), *Therapeutic rTMS in Neurology* (pp. 1-10): Springer International Publishing.
- Hattori, Y., Moriwaki, A., & Hori, Y. (1990). Biphasic effects of polarizing current on adenosine-sensitive generation of cyclic AMP in rat cerebral cortex. *Neurosci Lett*, 116(3), 320-324.
- Herbsman, T., Forster, L., Molnar, C., Dougherty, R., Christie, D., Koola, J., . . . Nahas, Z. (2009). Motor threshold in transcranial magnetic stimulation: the impact of white matter fiber orientation and skull-to-cortex distance. *Hum Brain Mapp*, 30(7), 2044-2055. doi: 10.1002/hbm.20649
- Hordacre, B., Goldsworthy, M. R., Vallence, A. M., Darvishi, S., Moezzi, B., Hamada, M., . . . Ridding, M. C. (2017). Variability in neural excitability and plasticity induction in the human cortex: A brain stimulation study. *Brain Stimul*, 10(3), 588-595. doi: 10.1016/j.brs.2016.12.001
- Huang, Y. Z., Edwards, M. J., Rounis, E., Bhatia, K. P., & Rothwell, J. C. (2005). Theta burst stimulation of the human motor cortex. *Neuron*, 45(2), 201-206. doi: 10.1016/j.neuron.2004.12.033
- Huang, Y. Z., Lu, M. K., Antal, A., Classen, J., Nitsche, M., Ziemann, U., . . . Rothwell, J. (2017). Plasticity induced by non-invasive transcranial brain stimulation: A position paper. *Clin Neurophysiol*, 128(11), 2318-2329. doi: 10.1016/j.clinph.2017.09.007
- Ilic, T. V., Meintzschel, F., Cleff, U., Ruge, D., Kessler, K. R., & Ziemann, U. (2002). Short-interval paired-pulse inhibition and facilitation of human motor cortex: the dimension of stimulus intensity. *J Physiol*, 545(Pt 1), 153-167.
- Islam, N., Aftabuddin, M., Moriwaki, A., Hattori, Y., & Hori, Y. (1995). Increase in the calcium level following anodal polarization in the rat brain. *Brain Res*, 684(2), 206-208.
- Kaelin-Lang, A., & Cohen, L. G. (2000). Enhancing the quality of studies using transcranial magnetic and electrical stimulation with a new computer-controlled system. *J Neurosci Methods*, 102(1), 81-89.
- Kidgell, D. J., Daly, R. M., Young, K., Lum, J., Tooley, G., Jaberzadeh, S., . . . Pearce, A. J. (2013). Different current intensities of anodal transcranial direct current stimulation do not differentially modulate motor cortex plasticity. *Neural Plast*, 2013, 603502. doi: 10.1155/2013/603502
- Kiers, L., Cros, D., Chiappa, K. H., & Fang, J. (1993). Variability of motor potentials evoked by transcranial magnetic stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 89(6), 415-423.
- Kohl, S., Hannah, R., Rocchi, L., Nord, C. L., Rothwell, J., & Voon, V. (2018). Cortical Paired Associative Stimulation Influences Response Inhibition: Cortico-cortical and Cortico-subcortical Networks. *Biol Psychiatry*. doi: 10.1016/j.biopsych.2018.03.009

- Kujirai, T., Caramia, M. D., Rothwell, J. C., Day, B. L., Thompson, P. D., Ferbert, A., . . . Marsden, C. D. (1993). Corticocortical inhibition in human motor cortex. *J Physiol*, 471, 501-519.
- Kuo, M.-F., Grosch, J., Fregni, F., Paulus, W., & Nitsche, M. A. (2007). Focusing Effect of Acetylcholine on Neuroplasticity in the Human Motor Cortex. *The Journal of Neuroscience*, 27(52), 14442-14447. doi: 10.1523/jneurosci.4104-07.2007
- Kuo, M. F., Paulus, W., & Nitsche, M. A. (2006). Sex differences in cortical neuroplasticity in humans. *Neuroreport*, 17(16), 1703-1707. doi: 10.1097/01.wnr.0000239955.68319.c2
- Kuo, M. F., Paulus, W., & Nitsche, M. A. (2008). Boosting focally-induced brain plasticity by dopamine. *Cereb Cortex*, 18(3), 648-651. doi: 10.1093/cercor/bhm098
- Labruna, L., Jamil, A., Fresnoza, S., Batsikadze, G., Kuo, M. F., Vanderschelden, B., . . . Nitsche, M. A. (2016). Efficacy of Anodal Transcranial Direct Current Stimulation is Related to Sensitivity to Transcranial Magnetic Stimulation. *Brain Stimul*, 9(1), 8-15. doi: 10.1016/j.brs.2015.08.014
- Lanza, G., Lanuzza, B., Arico, D., Cantone, M., Cosentino, F. I. I., Bella, R., . . . Pennisi, M. (2018). Impaired short-term plasticity in restless legs syndrome: a pilot rTMS study. *Sleep Med*, 46, 1-4. doi: 10.1016/j.sleep.2018.02.008
- Leffa, D. T., Bellaver, B., Salvi, A. A., de Oliveira, C., Caumo, W., Grevet, E. H., . . . Torres, I. L. S. (2018). Transcranial direct current stimulation improves long-term memory deficits in an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder and modulates oxidative and inflammatory parameters. *Brain Stimul*. doi: 10.1016/j.brs.2018.04.001
- Levy, W. J., York, D. H., McCaffrey, M., & Tanzer, F. (1984). Motor evoked potentials from transcranial stimulation of the motor cortex in humans. *Neurosurgery*, 15(3), 287-302.
- Liebetanz, D., Fregni, F., Monte-Silva, K. K., Oliveira, M. B., Amancio-dos-Santos, A., Nitsche, M. A., & Guedes, R. C. (2006). After-effects of transcranial direct current stimulation (tDCS) on cortical spreading depression. *Neurosci Lett*, 398(1-2), 85-90. doi: 10.1016/j.neulet.2005.12.058
- Liebetanz, D., Nitsche, M. A., Tergau, F., & Paulus, W. (2002). Pharmacological approach to the mechanisms of transcranial DC-stimulation-induced after-effects of human motor cortex excitability. *Brain*, 125(Pt 10), 2238-2247.
- Lolas, F. (1977). Brain polarization: behavioral and therapeutic effects. *Biol Psychiatry*, 12(1), 37-47.
- Lopez-Alonso, V., Cheeran, B., Rio-Rodriguez, D., & Fernandez-Del-Olmo, M. (2014). Inter-individual variability in response to non-invasive brain stimulation paradigms. *Brain Stimul*, 7(3), 372-380. doi: 10.1016/j.brs.2014.02.004
- Lopez-Alonso, V., Fernandez-Del-Olmo, M., Costantini, A., Gonzalez-Henriquez, J. J., & Cheeran, B. (2015). Intra-individual variability in the response to anodal transcranial direct current stimulation. *Clin Neurophysiol*, 126(12), 2342-2347. doi: 10.1016/j.clinph.2015.03.022

- Lu, B. (2003). BDNF and activity-dependent synaptic modulation. *Learn Mem*, 10(2), 86-98. doi: 10.1101/lm.54603
- Lugon, M., Batsikadze, G., Fresnoza, S., Grundey, J., Kuo, M. F., Paulus, W., . . . Nitsche, M. A. (2017). Mechanisms of Nicotinic Modulation of Glutamatergic Neuroplasticity in Humans. *Cereb Cortex*, 27(1), 544-553. doi: 10.1093/cercor/bhv252
- Lugon, M. D., Batsikadze, G., Fresnoza, S., Grundey, J., Kuo, M. F., Paulus, W., . . . Nitsche, M. A. (2015). Mechanisms of Nicotinic Modulation of Glutamatergic Neuroplasticity in Humans. *Cereb Cortex*. doi: 10.1093/cercor/bhv252
- Magistris, M. R., Rosler, K. M., Truffert, A., & Myers, J. P. (1998). Transcranial stimulation excites virtually all motor neurons supplying the target muscle. A demonstration and a method improving the study of motor evoked potentials. *Brain*, 121 (Pt 3), 437-450.
- Maina, G., Rosso, G., Zanardini, R., Bogetto, F., Gennarelli, M., & Bocchio-Chiavetto, L. (2010). Serum levels of brain-derived neurotrophic factor in drug-naïve obsessive-compulsive patients: a case-control study. *J Affect Disord*, 122(1-2), 174-178. doi: 10.1016/j.jad.2009.07.009
- Mayer, M. L., Westbrook, G. L., & Guthrie, P. B. (1984). Voltage-dependent block by Mg²⁺ of NMDA responses in spinal cord neurones. *Nature*, 309(5965), 261-263.
- McConnell, K. A., Nahas, Z., Shastri, A., Lorberbaum, J. P., Kozel, F. A., Bohning, D. E., & George, M. S. (2001). The transcranial magnetic stimulation motor threshold depends on the distance from coil to underlying cortex: a replication in healthy adults comparing two methods of assessing the distance to cortex. *Biol Psychiatry*, 49(5), 454-459.
- McEwen, B. S. (1994). How do sex and stress hormones affect nerve cells? *Ann N Y Acad Sci*, 743, 1-16; discussion 17-18.
- Miranda, P. C., Lomarev, M., & Hallett, M. (2006). Modeling the current distribution during transcranial direct current stimulation. *Clin Neurophysiol*, 117(7), 1623-1629. doi: 10.1016/j.clinph.2006.04.009
- Moliadze, V., Schmanke, T., Andreas, S., Lyzhko, E., Freitag, C. M., & Siniatchkin, M. (2015). Stimulation intensities of transcranial direct current stimulation have to be adjusted in children and adolescents. *Clin Neurophysiol*, 126(7), 1392-1399. doi: 10.1016/j.clinph.2014.10.142
- Moller, C., Arai, N., Lucke, J., & Ziemann, U. (2009). Hysteresis effects on the input-output curve of motor evoked potentials. *Clin Neurophysiol*, 120(5), 1003-1008. doi: 10.1016/j.clinph.2009.03.001
- Monte-Silva, K., Kuo, M. F., Hessenthaler, S., Fresnoza, S., Liebetanz, D., Paulus, W., & Nitsche, M. A. (2013). Induction of late LTP-like plasticity in the human motor cortex by repeated non-invasive brain stimulation. *Brain Stimul*, 6(3), 424-432. doi: 10.1016/j.brs.2012.04.011
- Monte-Silva, K., Kuo, M. F., Liebetanz, D., Paulus, W., & Nitsche, M. A. (2010). Shaping the optimal repetition interval for cathodal transcranial direct current stimulation (tDCS). *J Neurophysiol*, 103(4), 1735-1740. doi: 10.1152/jn.00924.2009
- Moriwaki, A. (1991). Polarizing currents increase noradrenaline-elicited accumulation of cyclic AMP in rat cerebral cortex. *Brain Res*, 544(2), 248-252.

- Morris, R. G. (2013). NMDA receptors and memory encoding. *Neuropharmacology*, 74, 32-40. doi: 10.1016/j.neuropharm.2013.04.014
- Muller-Dahlhaus, J. F., Orekhov, Y., Liu, Y., & Ziemann, U. (2008). Interindividual variability and age-dependency of motor cortical plasticity induced by paired associative stimulation. *Exp Brain Res*, 187(3), 467-475. doi: 10.1007/s00221-008-1319-7
- Murtagh, F., & Legendre, P. (2014). Ward's Hierarchical Agglomerative Clustering Method: Which Algorithms Implement Ward's Criterion? *Journal of Classification*, 31(3), 274-295. doi: 10.1007/s00357-014-9161-z
- Nitsche, M. A., Cohen, L. G., Wassermann, E. M., Priori, A., Lang, N., Antal, A., . . . Pascual-Leone, A. (2008). Transcranial direct current stimulation: State of the art 2008. *Brain Stimul*, 1(3), 206-223. doi: 10.1016/j.brs.2008.06.004
- Nitsche, M. A., Doemkes, S., Karakose, T., Antal, A., Liebetanz, D., Lang, N., . . . Paulus, W. (2007). Shaping the effects of transcranial direct current stimulation of the human motor cortex. *J Neurophysiol*, 97(4), 3109-3117. doi: 10.1152/jn.01312.2006
- Nitsche, M. A., Fricke, K., Henschke, U., Schlitterlau, A., Liebetanz, D., Lang, N., . . . Paulus, W. (2003). Pharmacological modulation of cortical excitability shifts induced by transcranial direct current stimulation in humans. *J Physiol*, 553(Pt 1), 293-301. doi: 10.1113/jphysiol.2003.049916
- Nitsche, M. A., Lampe, C., Antal, A., Liebetanz, D., Lang, N., Tergau, F., & Paulus, W. (2006). Dopaminergic modulation of long-lasting direct current-induced cortical excitability changes in the human motor cortex. *Eur J Neurosci*, 23(6), 1651-1657. doi: 10.1111/j.1460-9568.2006.04676.x
- Nitsche, M. A., Liebetanz, D., Schlitterlau, A., Henschke, U., Fricke, K., Frommann, K., . . . Tergau, F. (2004). GABAergic modulation of DC stimulation-induced motor cortex excitability shifts in humans. *Eur J Neurosci*, 19(10), 2720-2726. doi: 10.1111/j.0953-816X.2004.03398.x
- Nitsche, M. A., Liebetanz, D., Tergau, F., & Paulus, W. (2002). [Modulation of cortical excitability by transcranial direct current stimulation]. *Nervenarzt*, 73(4), 332-335.
- Nitsche, M. A., & Paulus, W. (2000). Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. *J Physiol*, 527 Pt 3, 633-639.
- Nitsche, M. A., & Paulus, W. (2001). Sustained excitability elevations induced by transcranial DC motor cortex stimulation in humans. *Neurology*, 57(10), 1899-1901.
- Nitsche, M. A., & Paulus, W. (2011). Transcranial direct current stimulation--update 2011. *Restor Neurol Neurosci*, 29(6), 463-492. doi: 10.3233/rnn-2011-0618
- Nitsche, M. A., Seeber, A., Frommann, K., Klein, C. C., Rochford, C., Nitsche, M. S., . . . Tergau, F. (2005). Modulating parameters of excitability during and after transcranial direct current stimulation of the human motor cortex. *J Physiol*, 568(Pt 1), 291-303. doi: 10.1113/jphysiol.2005.092429

- Nowak, L., Bregestovski, P., Ascher, P., Herbet, A., & Prochiantz, A. (1984). Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones. *Nature*, 307(5950), 462-465.
- Oldfield, R. C. (1971). The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. *Neuropsychologia*, 9(1), 97-113.
- Opitz, A., Paulus, W., Will, S., Antunes, A., & Thielscher, A. (2015). Determinants of the electric field during transcranial direct current stimulation. *Neuroimage*, 109, 140-150. doi: 10.1016/j.neuroimage.2015.01.033
- Palm, U., Feichtner, K. B., Hasan, A., Gauglitz, G., Langguth, B., Nitsche, M. A., . . . Padberg, F. (2014). The role of contact media at the skin-electrode interface during transcranial direct current stimulation (tDCS). *Brain Stimul*, 7(5), 762-764. doi: 10.1016/j.brs.2014.06.006
- Pascual-Leone, A., Amedi, A., Fregni, F., & Merabet, L. B. (2005). The plastic human brain cortex. *Annu Rev Neurosci*, 28, 377-401. doi: 10.1146/annurev.neuro.27.070203.144216
- Pascual-Leone, A., Freitas, C., Oberman, L., Horvath, J. C., Halko, M., Eldaief, M., . . . Rotenberg, A. (2011). Characterizing brain cortical plasticity and network dynamics across the age-span in health and disease with TMS-EEG and TMS-fMRI. *Brain Topogr*, 24(3-4), 302-315. doi: 10.1007/s10548-011-0196-8
- Pascual-Leone, A., Valls-Sole, J., Wassermann, E. M., & Hallett, M. (1994). Responses to rapid-rate transcranial magnetic stimulation of the human motor cortex. *Brain*, 117 (Pt 4), 847-858.
- Paulus, W. (2003). Transcranial direct current stimulation (tDCS). *Suppl Clin Neurophysiol*, 56, 249-254.
- Pelletier, S. J., & Cicchetti, F. (2015). Cellular and molecular mechanisms of action of transcranial direct current stimulation: evidence from in vitro and in vivo models. *Int J Neuropsychopharmacol*, 18(2). doi: 10.1093/ijnp/pyu047
- Pitcher, J. B., Ogston, K. M., & Miles, T. S. (2003). Age and sex differences in human motor cortex input-output characteristics. *J Physiol*, 546(Pt 2), 605-613.
- Pogosyan, A., Gaynor, L. D., Eusebio, A., & Brown, P. (2009). Boosting cortical activity at Beta-band frequencies slows movement in humans. *Curr Biol*, 19(19), 1637-1641. doi: 10.1016/j.cub.2009.07.074
- Priori, A., Berardelli, A., Rona, S., Accornero, N., & Manfredi, M. (1998). Polarization of the human motor cortex through the scalp. *Neuroreport*, 9(10), 2257-2260.
- Purpura, D. P., & McMurtry, J. G. (1965). INTRACELLULAR ACTIVITIES AND EVOKED POTENTIAL CHANGES DURING POLARIZATION OF MOTOR CORTEX. *J Neurophysiol*, 28, 166-185.
- Ridding, M. C., & Rothwell, J. C. (2007). Is there a future for therapeutic use of transcranial magnetic stimulation? *Nat Rev Neurosci*, 8(7), 559-567. doi: 10.1038/nrn2169
- Ridding, M. C., Taylor, J. L., & Rothwell, J. C. (1995). The effect of voluntary contraction on cortico-cortical inhibition in human motor cortex. *J Physiol*, 487 (Pt 2), 541-548.

- Ridding, M. C., & Ziemann, U. (2010). Determinants of the induction of cortical plasticity by non-invasive brain stimulation in healthy subjects. *J Physiol*, 588(Pt 13), 2291-2304. doi: 10.1113/jphysiol.2010.190314
- Rossi, S., Hallett, M., Rossini, P. M., & Pascual-Leone, A. (2009). Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research. *Clin Neurophysiol*, 120(12), 2008-2039. doi: 10.1016/j.clinph.2009.08.016
- Rossini, P. M., Burke, D., Chen, R., Cohen, L. G., Daskalakis, Z., Di Iorio, R., . . . Ziemann, U. (2015). Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord, roots and peripheral nerves: Basic principles and procedures for routine clinical and research application. An updated report from an I.F.C.N. Committee. *Clin Neurophysiol*, 126(6), 1071-1107. doi: 10.1016/j.clinph.2015.02.001
- Russo, C., Souza Carneiro, M. I., Bolognini, N., & Fregni, F. (2017). Safety Review of Transcranial Direct Current Stimulation in Stroke. *Neuromodulation*, 20(3), 215-222. doi: 10.1111/ner.12574
- Sale, M. V., Ridding, M. C., & Nordstrom, M. A. (2007). Factors influencing the magnitude and reproducibility of corticomotor excitability changes induced by paired associative stimulation. *Exp Brain Res*, 181(4), 615-626. doi: 10.1007/s00221-007-0960-x
- Sampaio-Junior, B., Tortella, G., Borriore, L., Moffa, A. H., Machado-Vieira, R., Cretaz, E., . . . Brunoni, A. R. (2018). Efficacy and Safety of Transcranial Direct Current Stimulation as an Add-on Treatment for Bipolar Depression: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Psychiatry*, 75(2), 158-166. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2017.4040
- Siebner, H. R., & Ziemann, U. (2007). *Das TMS-Buch: Handbuch der transkraniellen Magnetstimulation*: Springer-Verlag.
- Stefan, K., Kunesch, E., Cohen, L. G., Benecke, R., & Classen, J. (2000). Induction of plasticity in the human motor cortex by paired associative stimulation. *Brain*, 123 Pt 3, 572-584.
- Strube, W., Bunse, T., Malchow, B., & Hasan, A. (2015). Efficacy and interindividual variability in motor-cortex plasticity following anodal tDCS and paired-associative stimulation. *Neural Plast*, 2015, 530423. doi: 10.1155/2015/530423
- Thirugnanasambandam, N., Grundey, J., Paulus, W., & Nitsche, M. A. (2011). Dose-dependent nonlinear effect of L-DOPA on paired associative stimulation-induced neuroplasticity in humans. *J Neurosci*, 31(14), 5294-5299. doi: 10.1523/jneurosci.6258-10.2011
- Todd, G., Kimber, T. E., Ridding, M. C., & Semmler, J. G. (2010). Reduced motor cortex plasticity following inhibitory rTMS in older adults. *Clin Neurophysiol*, 121(3), 441-447. doi: 10.1016/j.clinph.2009.11.089
- Touge, T., Gerschlager, W., Brown, P., & Rothwell, J. C. (2001). Are the after-effects of low-frequency rTMS on motor cortex excitability due to changes in the efficacy of cortical synapses? *Clin Neurophysiol*, 112(11), 2138-2145.
- VanDongen, A. M. (2008). *Biology of the NMDA receptor*. CRC Press.
- Vaseghi, B., Zoghi, M., & Jaberzadeh, S. (2015). Differential effects of cathodal transcranial direct current stimulation of prefrontal, motor and somatosensory cortices on cortical excitability and pain perception - a

- double-blind randomised sham-controlled study. *Eur J Neurosci*, 42(7), 2426-2437. doi: 10.1111/ejn.13043
- Voroslakos, M., Takeuchi, Y., Brinyiczki, K., Zombori, T., Oliva, A., Fernandez-Ruiz, A., . . . Berenyi, A. (2018). Direct effects of transcranial electric stimulation on brain circuits in rats and humans. *Nat Commun*, 9(1), 483. doi: 10.1038/s41467-018-02928-3
- Wagner, T., Valero-Cabre, A., & Pascual-Leone, A. (2007). Noninvasive human brain stimulation. *Annu Rev Biomed Eng*, 9, 527-565. doi: 10.1146/annurev.bioeng.9.061206.133100
- Wassermann, E. M. (1998). Risk and safety of repetitive transcranial magnetic stimulation: report and suggested guidelines from the International Workshop on the Safety of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation, June 5-7, 1996. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 108(1), 1-16.
- Wassermann, E. M. (2002). Variation in the response to transcranial magnetic brain stimulation in the general population. *Clin Neurophysiol*, 113(7), 1165-1171.
- Wiethoff, S., Hamada, M., & Rothwell, J. C. (2014). Variability in response to transcranial direct current stimulation of the motor cortex. *Brain Stimul*, 7(3), 468-475. doi: 10.1016/j.brs.2014.02.003
- Woods, A. J., Antal, A., Bikson, M., Boggio, P. S., Brunoni, A. R., Celnik, P., . . . Nitsche, M. A. (2016). A technical guide to tDCS, and related non-invasive brain stimulation tools. *Clin Neurophysiol*, 127(2), 1031-1048. doi: 10.1016/j.clinph.2015.11.012
- Wu, Y. J., Lin, C. C., Yeh, C. M., Chien, M. E., Tsao, M. C., Tseng, P., . . . Hsu, K. S. (2017). Repeated transcranial direct current stimulation improves cognitive dysfunction and synaptic plasticity deficit in the prefrontal cortex of streptozotocin-induced diabetic rats. *Brain Stimul*, 10(6), 1079-1087. doi: 10.1016/j.brs.2017.08.007
- Yamazaki, Y., Jia, Y., Hamaue, N., & Sumikawa, K. (2005). Nicotine-induced switch in the nicotinic cholinergic mechanisms of facilitation of long-term potentiation induction. *Eur J Neurosci*, 22(4), 845-860. doi: 10.1111/j.1460-9568.2005.04259.x
- Yuste, R., & Bonhoeffer, T. (2001). Morphological changes in dendritic spines associated with long-term synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci*, 24, 1071-1089. doi: 10.1146/annurev.neuro.24.1.1071
- Ziemann, U., Ilic, T. V., Pauli, C., Meintzschel, F., & Ruge, D. (2004). Learning modifies subsequent induction of long-term potentiation-like and long-term depression-like plasticity in human motor cortex. *J Neurosci*, 24(7), 1666-1672. doi: 10.1523/jneurosci.5016-03.2004
- Ziemann, U., Paulus, W., Nitsche, M. A., Pascual-Leone, A., Byblow, W. D., Berardelli, A., . . . Rothwell, J. C. (2008). Consensus: Motor cortex plasticity protocols. *Brain Stimul*, 1(3), 164-182. doi: 10.1016/j.brs.2008.06.006
- Ziemann, U., Reis, J., Schwenkreis, P., Rosanova, M., Strafella, A., Badawy, R., & Muller-Dahlhaus, F. (2015). TMS and drugs revisited 2014. *Clin Neurophysiol*, 126(10), 1847-1868. doi: 10.1016/j.clinph.2014.08.028
- Ziemann, U., Rothwell, J. C., & Ridding, M. C. (1996). Interaction between intracortical inhibition and facilitation in human motor cortex. *J Physiol*, 496 (Pt 3), 873-881.